ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE :103

CONTRIBUTION A L'ETUDE MORPHOLOGIQUE DE L'HYPOPLASIE CÉRÉBELLEUSE PROVOQUÉE CHEZ LE CHATON ET LE FURETEAU

THESE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Loïc, Erwan LONGEART
Né, le 19 Juin 1958 à CHERBOURG (Manche)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur Guilhem
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur CABANIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEIDEN
1878

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE :103

CONTRIBUTION A L'ETUDE MORPHOLOGIQUE DE L'HYPOPLASIE CÉRÉBELLEUSE PROVOQUÉE CHEZ LE CHATON ET LE FURETEAU

THESE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Loïc, Erwan LONGEART
Né, le 19 Juin 1958 à CHERBOURG (Manche)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur Guilhem
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur CABANIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur VAN HAVERBEKE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : ..... M. LAUTIE
Directeur honoraire : ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires : ..... MM. BRIZARD
..... SAURAT
..... GODFRAIN

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire : ..... Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant : ..... M. PETIT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MÉDICALES

Professeur titulaire : ..... MM. RICO
Professeur sans chaire : ..... BRAUN
Maître-Assistant : ..... BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire : ..... MM. PAVAUX
Maître-Assistant : ..... LIGNEREUX
Maître-Assistant : ..... SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THÉRAPEUTIQUE

Professeur titulaire : ..... MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire : ..... FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé : ..... TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOIRE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire : ..... MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire : ..... CABANIE
Maître-Assistant : ..... MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIÈNE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire : ..... MM. LABIE
Maître de Conférence : ..... EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé : ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires
d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire : ..... MM. DORCHIES
Maître de Conférences : ..... FRANC
Maître Assistant : ..... DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Écologie - Parasitologie externe -
Dermatologie Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MÉDICALE DES ÉQUIDÉS ET CARNIVORES ET DE LÉGISLATION

Professeur titulaire : ..... MM. LESCURE
Maître de Conférences : ..... GUELFI
Maître Assistant : ..... REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Équidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MÉDICALE DU BÉTAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire : ..... MM. TOURNUT
Maître de Conférences : ..... BEZILLE
Maître Assistant : ..... JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des animaux de basse-cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire : ..... MM. CAZIEUX
Maître de Conférences : ..... GENEVOIS
Maître Assistant : ..... AUTEFAGE
Maître Assistant : ..... FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie chirurgicale - Radiologie -
Technique chirurgicale - Anesthésiologie - Pathologie Chirurgicale -
Traumatologie - Podologie orthopédique - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire : ..... MM. FERNEY
Professeur sans chaire : ..... ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle -
Sémiologie et propédeutique - Pathologie de la Reproduction -
Obstétrique et pathologie du nouveau-né Clinique -
Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LÉGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire : ..... MM. CHANTAL
Maître Assistant : ..... PICAVET

Épidémiologie - Maladies Contagieuses
Zoonoses - Législation sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GÉNÉRALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire : ..... MM. LAUTIE
Maître Assistant : ..... PELLERIN
Maître Assistant : ..... MILON

Microbiologie - Immunologie -
Pathologie Générale

CHAIRE D'ÉLEVAGE ET ÉCONOMIE

Professeur titulaire : ..... MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire : ..... DARRE
Maître Assistant : ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale - Extérieur - Zootechnie et économie générales -
Ethologie appliquée, Sciences, Techniques, Economie de l'Élevage et des Productions animales -
Insémination artificielle - Organisation de l'Élevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire : ..... MM. FALIU
Professeur sans chaire : ..... GRIESS
Maître Assistant : ..... ENJALBERT

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGÉS D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1981 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924.)

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

A Monsieur le Professeur GUILHEM
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Qui nous fait le très grand honneur
de présider notre Jury de Thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

A Monsieur le Professeur CABANIE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a guidé dans l'élaboration
de ce travail

A Monsieur le Professeur VAN HAVERBEKE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a accueilli dans son Service

Qu'ils trouvent ici le sincère témoignage de
notre admiration et de notre profond respect.

A Monsieur le Professeur LABIE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Dont l'enseignement sur le système nerveux dans le cadre du C.E.S. d'Anatomie pathologique des Animaux de Laboratoire nous a guidé.

Hommage respectueux

A Monsieur le Professeur PAVAUX
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Dont l'enseignement illustré a été pour nous d'une aide précieuse

Hommage respectueux.

Au Docteur Vétérinaire CHAPPUIS

Qui nous a proposé le sujet de cette thèse. et nous a apporté son aide

Avec tous mes sentiments amicaux.

A l'Ensemble du Personnel du Service du Dr;Chappuis à l'IFFA.MERIEUX

Pour sa participation active à l'expérimentation
Avec toute notre reconnaissance

A Toutes les Personnes du Service d'Histologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse qui ont bien voulu m'aider dans la réalisation de ce travail.

Avec toute ma gratitude.

A la Mémoire de mon Père,

A toute ma Famille,

A mes Amis.

PLAN

INTRODUCTION p.1

Première Partie :

RAPPELS DE DONNÉES MORPHOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES CONCERNANT LE CERVELET p.3

I) ORGANOGENESE p.3

A) Stade 3 vésicules p.4
B) Stade 5 vésicules p.4
C) Développement de l'ébauche cérébelleuse p.6
D) Apparition des sillons p.9

II) HISTOGENESE

A) Histogénèse topographique
1) Mise en place de l'ébauche cérébelleuse p.11
2) Constitution de la couche granulaire externe p.11
3) Mise en place des noyaux gris centraux p.13
4) Constitution de la lamina dissecans p.13
5) Devenir des différentes couches p.14
6) Topographie du cortex cérébelleux

B) Histogénèse structurale p.18
1) Cytologie des différents neurones p.18
2) Mise en place des éléments exogènes p.24

C) Particularités de l'histogénèse dans l'espèce féline p.26

1) Evolution post natale des divers éléments nerveux p.27

2) Chronologie de la différenciation en fonction de la topographie p.31

III) APERCU DE LA PHYSIOLOGIE CEREBELLEUSE

A) Organisation synaptique p.32

1) Voies afférentes p.32

2) Voies inhibitrices de la cellule de Purkinje p.33

3) Voies efférentes p.35

B) Anatomo-physiologie du cervelet p.35

1) Les connexions cérébelleuses principales p.35

2) Fonctionnement du cervelet p.40

Deuxième Partie :

ETUDE EXPÉRIMENTALE p.42

I) MATERIEL ET METHODES p.43

A) Animaux p. 43

B) Inoculations

1) Protocole

2) Souches virales utilisées

C) Prélèvements p.44

1) Mode de sacrifice p.44

2) Liquide fixateur p.45

D) Devenir des prélèvements p.46

1) Prélèvements sanguins p.46

2) Cervelets p.46

II) RESULTATS

A) Présentation p.48

B) Commentaires p.52

1) Examen clinique p.52

2) Examen sérologique p.52

3) Examen macroscopique p.53

4) Examen en microscopie électronique p.53

5) Examen en microscopie photonique p.54

III) DISCUSSION p.55

CONCLUSION p.59

ICONOGRAPHIE p.60

ANNEXES p.65

BIBLIOGRAPHIE p.71

INTRODUCTION

L'étiologie parvovirale de l'hypoplasie cérébelleuse du chaton associée au syndrome ataxie est aujourd'hui établie. Cette hypoplasie fut longtemps supposée d'origine génétique (4) et il fallut attendre les travaux de KILHAM et MARGOLIS (17) pour démontrer son étiologie virale: ils reproduisirent l'affection par des inoculations à des sujets nouveau-nés de broyats de cervelets atteints et montrèrent que le facteur transmissible était un virus. Par la suite, en collaboration avec JOHNSON, ils précisèrent la nature de l'agent causal grâce à différents tests biologiques tels que séroneutralisation in vivo et immunofluorescence sur lames : il s'agissait du parvovirus, par ailleurs bien connu, de la panleucopénie infectieuse féline (14).

Afin d'étudier les aspects histopathologiques de cette ataxie cérébelleuse, nous avons tenté de reproduire ce syndrome chez le chaton et le furet eau par injections croisées de différentes souches sauvages et atténuées, de parvoviridae.

L'étude pathogénique de cette affection nous a amené à préciser la chronologie du développement cérébelleux dans les espèces concernées, et les relations existant entre la structure du cervelet et la motilité.

C'est pourquoi, nous présenterons, dans une première partie, un rappel sur le développement anatomique et physiologique du cervelet, en

insistant sur l'histogénèse du cortex cérébelleux et ses particularités dans l'espèce féline; dans un deuxième temps, nous exposerons notre travail expérimental, ses résultats et la discussion qu'ils suscitent.

Première Partie

RAPPELS DE DONNÉES MORPHOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES CONCERNANT LE CERVELET

Le cervelet est une partie du système nerveux central, impaire, médiane et symétrique, située dans l'étage inférieur du crâne au-dessous des hémisphères cérébraux.

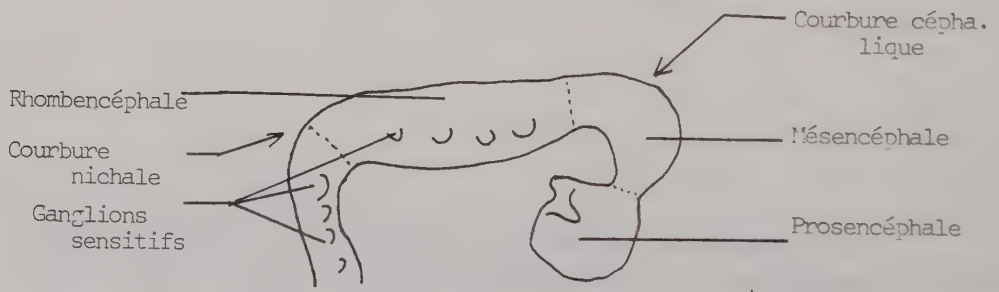
Le fait marquant de son développement est la mise en place progressive d'une organisation cellulaire étagée typique particulièrement complexe dans ses inter-relations. C'est pourquoi, après avoir sommairement décrit les étapes de la morphogénèse, nous insisterons sur l'histogénèse en prenant pour exemple l'embryon humain, puis, nous nous efforcerons de préciser les particularités dans l'espèce féline.

I) ORGANOGENESE

Les données que nous résumons ici sont désormais classiques. Elles réalisent la synthèse de divers ouvrages d'Embryologie humaine (11)(20)(23)(35).

A) STADE TROIS VESICULES CEREBRALES

Embryologiquement, le tube neural, dont la fermeture s'achève vers le 25e jour de la vie intra-utérine, va présenter à son extrémité crâniale trois dilatations , les vésicules cérébrales primitives : prosencéphale ou cerveau antérieur, mésencéphale ou cerveau moyen et rhombencéphale ou cerveau postérieur. Simultanément, le tube neural s'infléchit dans la région du cerveau moyen en une courbure céphalique et à la jonction rhombencéphale-moelle épinière en une courbure cervicale :



Système nerveux central : stade 3 vésicules cérébrales - Embryon humain 28e jour (d'après -23-)

B) STADE CINQ VESICULES CEREBRALES

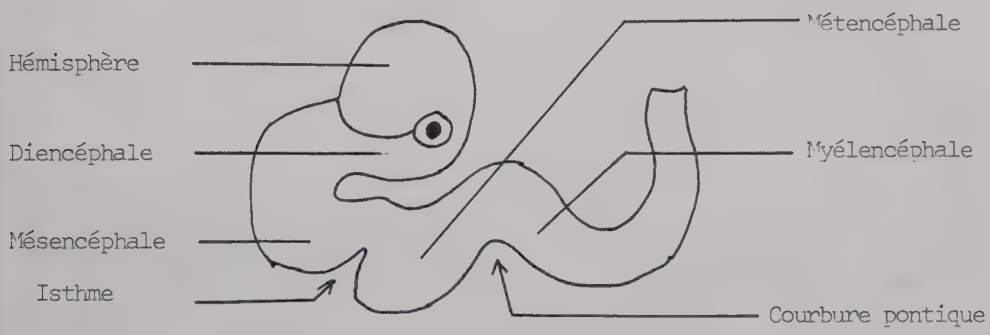
Ce stade est atteint vers le 35e jour et résulte de plusieurs événements :

&) le Prosencéphale se divise en deux portions, l'une antérieure, le télencéphale, à l'origine des hémisphères cérébraux, l'autre postérieure, le diencéphale, duquel s'évaginent les vésicules optiques.

&) le Mésencéphale, séparé alors du rhombencéphale par une profonde incisure, l'isthme rhombencéphalique, ne subit que peu de modifications. Il donnera dorsalement les tubercules quadrijumeaux et ventralement les pédoncules cérébraux.

&) le Rhombencéphale, quant à lui, donne naissance antérieurement à la vésicule métencéphalique et postérieurement à la vésicule myélencéphalique de part et d'autre d'une nouvelle séparation à concavité crâniale : la courbure pontique.

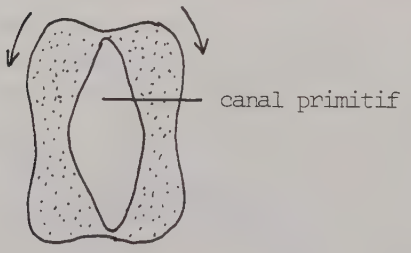
Cette séparation ne provient pas d'un processus d'étranglement du rhombencéphale, mais résulte plutôt d'un double épaississement de sa région antérieure, c'est-à-dire ventralement le Pont de Varole et dorsalement les lèvres rhombiques.



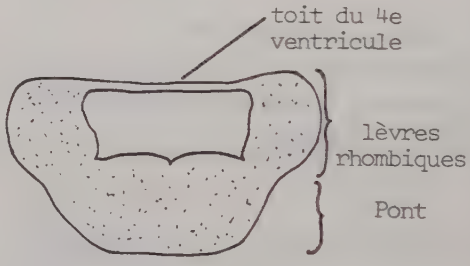
Vue latérale de l'encéphale d'un embryon humain de 6 semaines environ
Stade 5 vésicules cérébrales - d'après (20)

La cavité primitive du tube neural se différencie simultanément. Au niveau du rhombencéphale, elle s'élargit notablement pour former le " 4e ventricule ".

Des coupes transversales successives au niveau rhombencéphalique montrent que le tube neural primitif s'est éversé à la manière d'un livre qui s'ouvre, ce qui a eu pour conséquence l'amincissement notable de sa partie dorsale et la formation consécutive du " toit du 4e ventricule ".



Coupe transversale schématique du rhombencéphale stade 3 vésicules



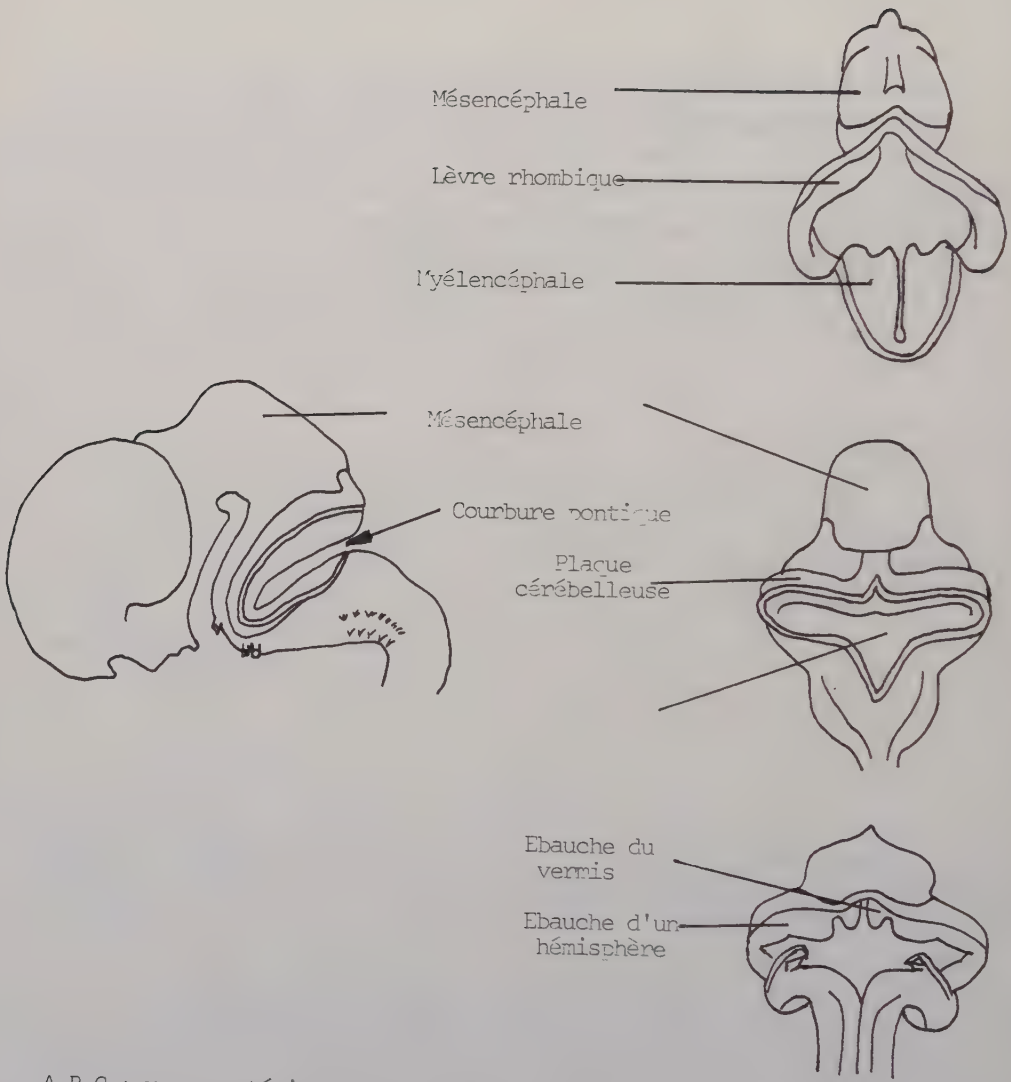
Coupe transversale schématique au niveau métencéphalique Stade 5 vésicules.

C) DEVELOPPEMENT DE L'EBAUCHE CEREBELLEUSE

Le métencéphale ainsi individualisé présente donc deux parties :

- l'une ventrale, le Pont de Varole ou protubérance annulaire
- l'autre dorsale, au voisinage du toit du 4e ventricule : les lèvres rhombiques, ébauche primitive du cervelet.

Ces lèvres rhombiques commencent à se développer entre le 40e et le 45e jour. Alors qu'elles restent distantes dans la partie caudale du métencéphale, elles se rapprochent et fusionnent en partie crâniale par suite de l'augmentation de la courbure pontique. Elles forment ainsi transversalement la plaque cérébelleuse (voir dessin p.8)



A,B,C : vues postérieures de l'encéphale d'un embryon humain

A : vers la 7e semaine - B : vers la 8e semaine
C : vers la 12e semaine

D : Correspondance en vue latérale/B

Le toit du 4e ventricule a été enlevé

(d'après - (11) (20) (22)

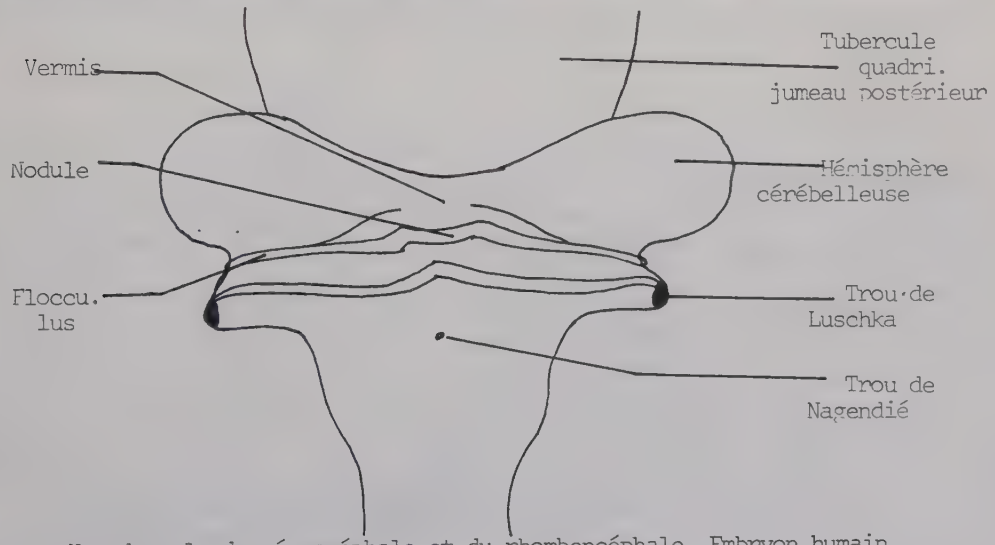
Dès la 12e semaine, on peut distinguer sur la plaque cérébelleuse une zone médiane, ébauche du vermis et deux lobes latéraux, ébauches des hémisphères cérébelleux.

Concomitament, le toit a été incorporé : il donnera la pie-mère du cervelet avec un voile médullaire antérieur et un voile médullaire postérieur. Ce dernier est envahi par des vaisseaux et forme une structure vasculaire : la toile choroïde du 4e ventricule qui deviendra le plexus choroïde cérébelleux.

D) APPARITION DES SILLONS

Vers la 15e semaine apparaît un sillon transversal qui délimite caudalement le nodule, issu du vermis, et les flocculus,provenant des lobes latéraux.

On a alors formation du lobe flocculo-nodulaire, considéré dans la phylogénèse comme le territoire le plus primitif : c'est l'archéocervelet.

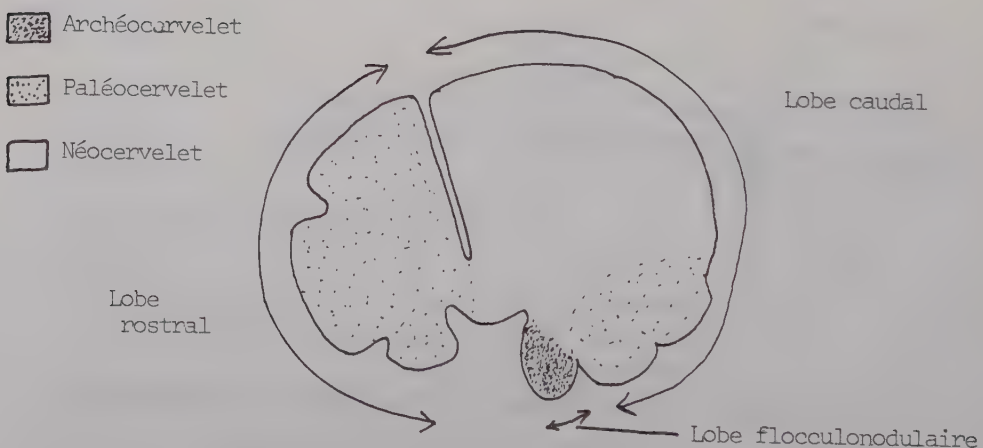


Vue dorsale du mésencéphale et du rhombencéphale. Embryon humain d'environ 4 mois - (d'après-23)

Petit à petit, on assiste au creusement de nombreux sillons qui vont conférer au cervelet sa morphologie lamellaire caractéristique. Cette fissuration a pour conséquence une augmentation notable de la surface de cortex cérébelleux. Nous retiendrons les principaux sillons :

- le sillon transverse antérieur (Nomenclature d'Anatomie Humaine de LARSELL), ou fissure primaire (anatomie comparée) qui sépare le lobe antérieur du lobe postérieur.
- puis, le sillon post-pyramidal, ou fissure secondaire, qui sépare pyramide et uvula.
- enfin, le sillon inférieur de Vicq d'Azir ou fissure pré-pyramidale qui sépare la pyramide du lobe para-médian.

Ces sillons sont les bases anatomiques de la différenciation entre le paléo-cervelet (qui comprend le lobe rostral, la pyramide, l'uvula et le paraflocculus) d'une part et le néocervelet comprenant le reste du lobe caudal. La signification de ces différents territoires sera abordée par la suite.



Schématisation du cervelet et de ses divers territoires
Coupe longitudinale

II) HISTOGENESE

L'ébauche cérébelleuse subit une série de transformations qui conduisent :

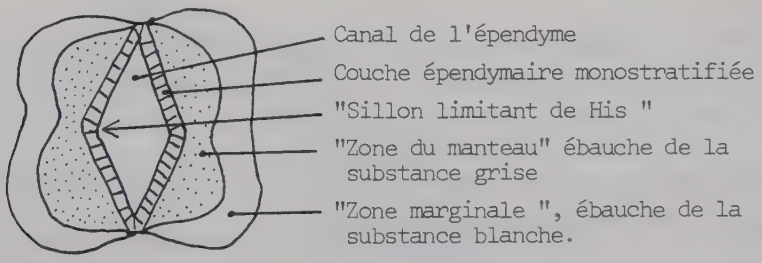
- à la mise en place des différentes couches cellulaires,
- la différenciation des types cellulaires,
- à la mise en relation de ces différents types cellulaires entre eux et avec les fibres exogènes.

Notons que, malgré leur complexité, l'histogénèse et l'architecture du cervelet ont été quasiment, complétement étudiées dès le début du siècle, en particulier par RAMON Y CAJAL (29)(30).

A) HISTOGENESE TOPOGRAPHIQUE

1- Mise en place de l'ébauche cérébelleuse

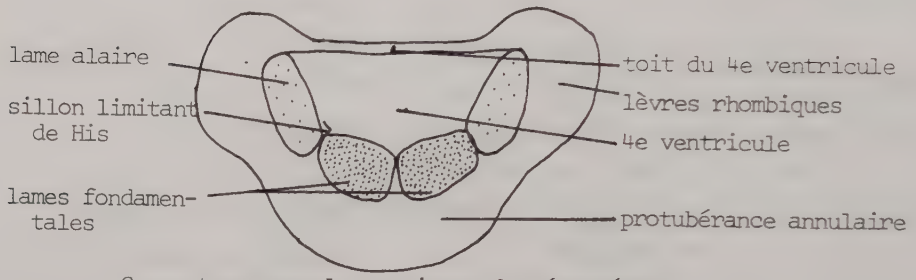
La structure primitive du tube neural est bien connue



Le sillon limitant de HIS clive la zone du manteau en deux territoires :

- dorsalement la " lame alaire ", réceptrice des afférences
- ventralement, la " lame fondamentale " émettrice des efférences.

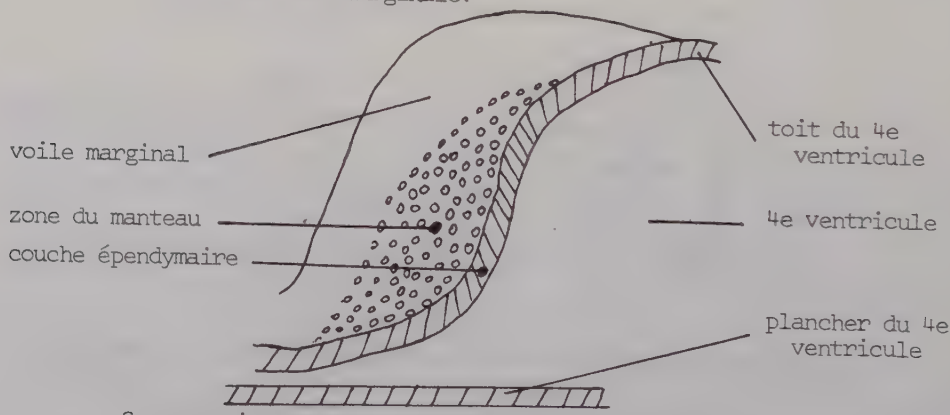
Au niveau du métencéphale, on retrouve cette structure de base



Coupe transversale au niveau du métencéphale

De ce fait, on retrouve au niveau des lèvres rhombiques une structure typique d'organe nerveux embryonnaire :

- une couche épendymaire monostrastifiée
- une zone du manteau, formée de cellules provenant de la partie dorsale des lames alaires
- une zone marginale.

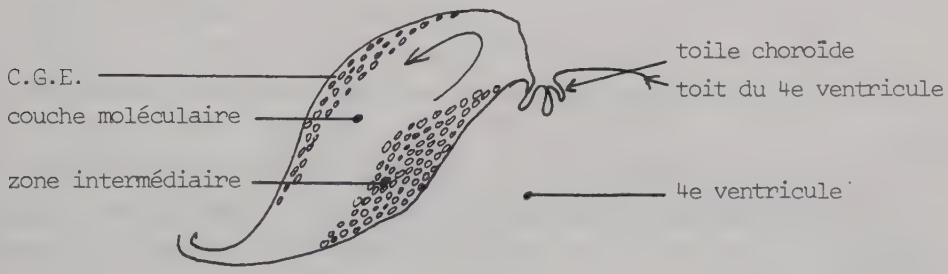


Coupe sagittale de la lèvre rhombique passant par le toit du 4e ventricule (embryon humain de 8 semaines environ)

(d'après-(35)

2- Constitution de la couche granulaire externe

A partir de la 12e semaine, des cellules de la couche profonde du manteau migrent en direction de la surface de la lèvre rhombique. Elles y conservent leur pouvoir de division et constituent donc une couche cellulaire dense à activité mitotique élevée dont l'épaisseur croît jusque vers la 20e semaine : c'est la couche granulaire externe, que nous noterons désormais C.G.E., dont les cellules sont petites (4-5µm) , fortement colorables, pauvres en cytoplasme.



Coupe sagittale de la lèvre rhombique (embryon humain 13e semaine)
La flèche indique le sens des migrations cellulaires.

3- Mise en place des noyaux gris centraux

En partie profonde, au sein de la zone intermédiaire, des condensations cellulaires, qui interviennent vers la 12e semaine, sont à l'origine des noyaux gris centraux du cervelet.

4- Constitution de la *lamina dissecans*

Vers la 20e semaine de la vie foetale se produit un clivage au sein de la zone intermédiaire : c'est la " *lamina dissecans* " qui sépare vers la

périphérie une couche de cellules encore immatures, futures cellules de Purkinje, du reste de la zone intermédiaire. Cette *lamina dissecans* n'existerait pas dans la plupart des espèces animales.

5- Devenir des différentes couches

a) C.G.E.

L'activité mitotique de la C.G.E. persiste jusque vers la 22e semaine. La couche atteint alors une épaisseur de 40 µm et possède de 6 à 9 assises cellulaires. Cette épaisseur ne variera guère jusqu'à la 33e semaine ; de la 34e semaine à la fin de la grossesse, elle diminue notablement: la C.G.E. est presque virtuelle à la naissance

Les cellules qui constituent cette couche évoluent suivant deux axes :

- elles se différencient soit en neuroblastes, soit en spongioblastes
- elles migrent pour la plupart d'entre elles et vont former sous la couche des cellules de Purkinje, la couche des grains internes du cervelet.

La C.G.E. donne donc :

- des cellules migratrices, parmi lesquelles on distingue :
  - &) des spongioblastes, qui vont donner naissance à des cellules névrogliques profondes
  - &) des neuroblastes, qui sont à l'origine des " grains internes" et des " cellules de Golgi type II "
- des cellules sédentaires, parmi lesquelles on distingue :
  - &) des spongioblastes, qui vont donner naissance à des cellules névrogliques superficielles
  - &) des neuroblastes qui se différencient en " cellules à corbeilles " et en " petites cellules étoilées "

b) Couche moléculaire

Cette couche reste pauvre en cellules. Elle s'accroît de façon relative du fait de la migration des cellules de la C.G.E. et de l'organisation de la couche des cellules de Purkinje.

c) Couche des cellules de Purkinje

Primitivement pluristratifiée, cette couche se modifie entre la 20e et la 25e semaine pour donner une couche régulière monostratifiée. Le plissement progressif de l'écorce serait à l'origine du glissement en sens tangentiel des somas des cellules de Purkinje.

Bien que totalement immatures, les cellules de Purkinje n'ont plus de pouvoir mitotique dès lors qu'elles ont gagné leur place.

Chez l'homme, l'acquisition par ces cellules des critères de neurones mûrs est précoce : elle précède la migration en profondeur des cellules de la C.G.E.

d) La *lamina dissecans*

Cette couche disparaît dès que les cellules de Purkinje ont achevé leur maturation. L'hypothèse retenue est que cette zone représenterait l'endroit temporaire de terminaison des fibres exogènes présynaptiques, attendant en quelque sorte la différenciation des cellules de Purkinje et la migration des cellules des grains

e) La zone intermédiaire

Le reste de cette zone constitue, en complément des cellules migratrices de la C.G.E., la couche des grains internes.

6- Topographie du cortex cérébelleux

L'ensemble des migrations conduit à une architecture cérébelleuse caractérisée par :

-- la présence d'une substance grise superficielle = le cortex cérébelleux
-- l'uniformité de cette structure sur toute l'étendue du cervelet
-- l'organisation du cortex cérébelleux en trois couches :
  - une couche profonde, ou couche des grains internes
  - une couche superficielle ou couche moléculaire
  - une couche intermédiaire ou couche des cellules de Purkinje

Le tableau I ci-contre schématise l'histotopographie du cortex cérébelleux chez l'homme à la naissance.

Plus profondément se trouve la substance blanche, constituée de fibres afférentes, " grimpantes " et " moussues " et de fibres efférentes : les axones des cellules de Purkinje. Les noyaux gris centraux du cervelet sont situés au coeur de cette substance blanche.

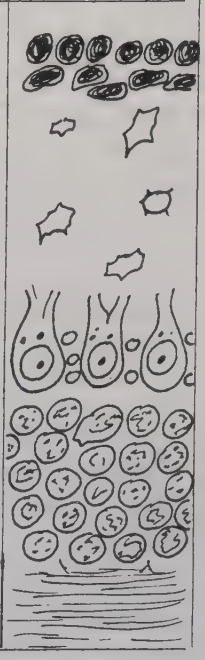
Nom de la couche	Types cellulaires rencontrés		Schémas
	nerveux	gliaux	
C.G.E. (résiduelle)	grains externes indifférenciés		
Couche moléculaire	Cellules étoilées externes Cellules à corbeille	Types gliaux habituels (beaucoup d'astrocytes)	
Couche de cellules de Purkinge	Cellules de Purkinje	" cellules de Bergmann"	
Couche des grains internes	Grains internes Cellules de Golgi Type II	Types gliaux Habituels (beaucoup d'astrocytes)	
Substance blanche			

TABLEAU I = Histologie topographique et Eléments constitutifs du cortex cérébelleux - Homme à la naissance d'après (27).

B) HISTOGENESE STRUCTURALE

Parallèlement à leur mise en place dans les différentes couches, les éléments cellulaires acquièrent des caractères cytologiques de neurones différenciés : croissance des prolongements dendritiques et axonaux, interconnexion avec les autres ramures.

Les étapes du développement des ramures sont parfaitement connues depuis le début du siècle grâce aux différentes techniques d'imprégnation argentique (29) . CAJAL (30) en fait une description minutieuse. Nous nous bornerons ici à en décrire les grandes lignes afin d'insister plutôt sur la cytologie des neurones cérébelleux mûrs, base de l'étude de la synaptologie et de l'histophysiologie que nous aborderons dans un prochain chapitre.

1- Cytologie des différents neurones

a) Cellules de Purkinje

Chez l'homme, les corps cellulaires des cellules de Purkinje sont disposés en une couche monostratifiée dès la 25e semaine de développement. La différenciation de ces cellules est précoce, et précède même le début de la migration des grains externes (11) . De ce fait, la couche moléculaire est bien individualisée dès la 30e semaine : elle correspond, en effet, en grande partie à l'aire couverte par la ramure dendritique des cellules de Purkinje.

- le corps cellulaire est en forme de poire et possède un diamètre d'environ 35µm. Le noyau est arrondi, vésiculeux et renferme un nucléole bien distinct. Le cytoplasme contient de nombreux corps de Nissl

- l'axone naît de la partie profonde du corps cellulaire. Il traverse la couche des grains et gagne la substance blanche du cervelet. Il représente la seule voie efférente du cortex cérébelleux.

- les dendrites issus du pôle apical constituent un véritable "arbre dendritique " à partir d'un gros dendrite primaire qui se dichotomise. Cet arbre est rigoureusement confiné dans un plan transversal à l'axe des lamelles; toutefois, les deux branches dendritiques principales se disposent parfois dans deux plans rigoureusement parallèles.

Les branches primaires et secondaires sont lisses ; à partir des branches tertiaires, la ramure dendritique est hérissée de nombreuses épines (qui correspondent à des synapses axodendritiques)

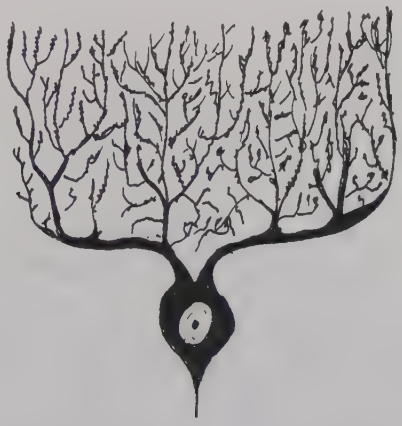


Schéma d'une cellule de Purkinje en imprégnation argentique
(d'après - 29)

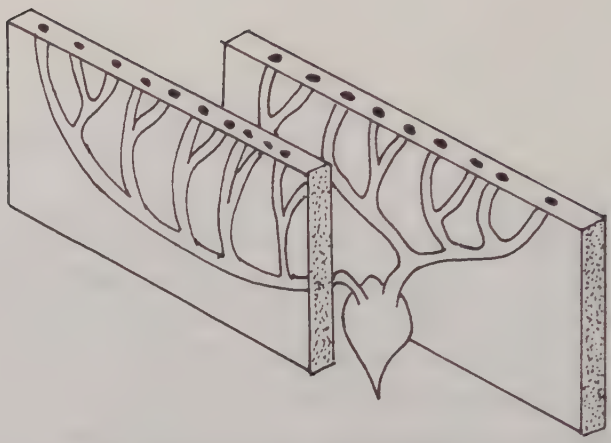
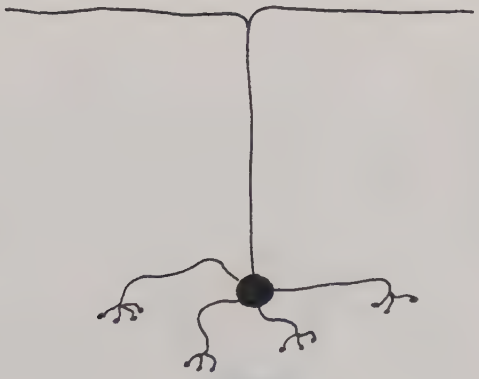


Diagramme montrant la disposition dans l'espace de la ramure d'une cellule de Purkinje (d'après -27- :)

b) Grains internes

C'est au cours de leur migration, qui s'achève vers la 34e semaine, que les grains acquièrent leur ramure dendritique. Ce n'est qu'une fois en place que se développe l'axone.

- le corps cellulaire est sphérique, d'un diamètre compris entre 5 et 8 µm; il ne possède pratiquement pas de cytoplasme
- les dendrites sont au nombre de 1 à 7 par grain. Ils sont courts et se terminent, toujours dans la couche des grains, d'une façon caractéristique par un bouquet de ramification en crochets.
- l'axone se dirige vers la couche moléculaire où il se divise en deux branches qui vont former les " fibres parallèles ". Ces fibres sont en relation avec les dendrites des cellules de Purkinje et on admet que chaque cellule de Purkinje est ainsi en contact avec 250 000 fibres parallèles.



Silhouette d'un grain du cervelet
(d'après -11-)

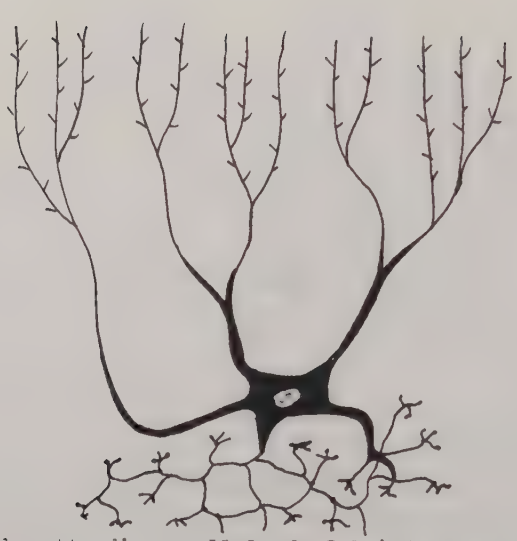
c) Cellules de Golgi type II

Encore appelées " grands neurones étoilés ", ces cellules sont celles pour lesquelles la cytogénèse a été la moins décrite (CAJAL pensait même qu'elles étaient issues de la zone intermédiaire, à la manière des cellules de Purkinje). On pense qu'elles acquièrent leur ramure une fois en place.

- le corps cellulaire est généralement situé dans la partie superficielle de la couche des grains. Il est de forme étoilée et de taille intermédiaire entre celle des grains et celle des cellules de Purkinje.
- les dendrites primaires naissent sur toutes les faces du cytone mais les dendrites secondaires gagnent pour la plupart la couche moléculaire où ils réalisent un arbre dendritique non confiné à un plan comme celui des cellules de Purkinje. Cet arbre est en relation avec les fibres parallèles.

De plus, quelques ramifications dendritiques issues de la partie profonde du cytone s'épuisent dans la couche des grains

- l'axone naît de la partie basale du cytone et se ramifie rapidement en de multiples prolongements terminés par des crochets.



Silhouette d'une cellule de Golgi de type II

(d'après - 11-)

d) Les cellules à corbeilles

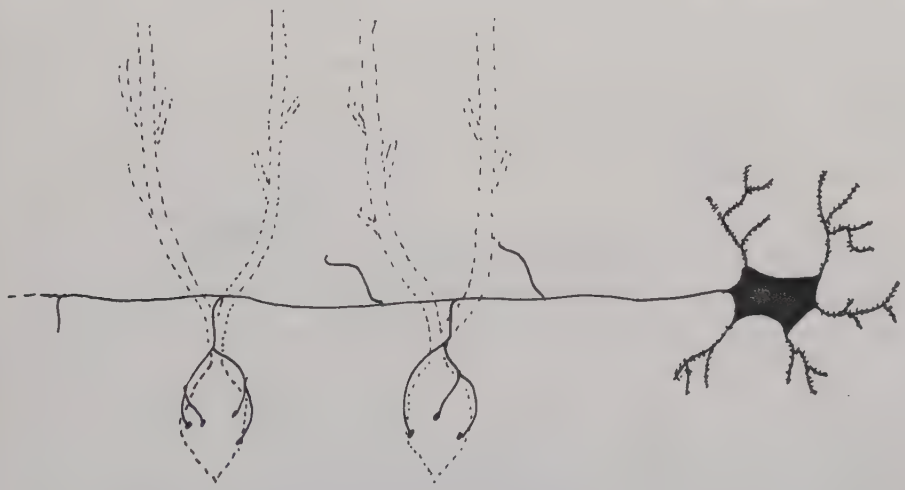
Ces neurones sont situés dans la moitié profonde de la couche moléculaire. Pour CAJAL (29) ils seraient mis en place après les grains, mais avant les petites cellules étoilées et subiraient un chimiotactisme positif de la part des cellules de Purkinje, flagrant pour ce qui est de la pousse de l'axone.

- le corps cellulaire est de forme généralement étoilée et mesure une vingtaine de µm dans sa plus grande dimension.

- les dendrites constituent un arbre dendritique parallèle à celui des cellules de Purkinje. Ils s'étalent dans les 2/3 profonds de la couche moléculaire et sont garnis d'épine.

- l'axone naît sur le côté du cytone et court dans un plan transversal à l'axe des lamelles. Chemin faisant, il émet des collatérales descendantes ou transversales à destination des cytones des cellules de Purkinje. Chaque collatérale se ramifie et entoure un corps cellulaire de cellules de Purkinje à la manière d'une corbeille tressée.

Ainsi, chaque axone est en relation avec environ 50 cellules de Purkinje. Le nombre de cellules à corbeilles étant égal à celui de cellules de Purkinje, il s'ensuit qu'une cellule de Purkinje est en relation avec 50 cellules à corbeilles.



Silhouette d'une cellule à corbeilles et ses relations avec 2 cellules de Purkinje (d'après -11-)

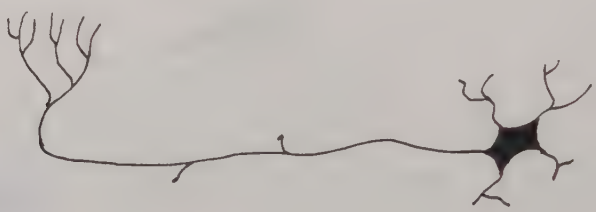
e) Cellules étoilées superficielles

Elles sont situées dans la portion la plus superficielle de la couche moléculaire et seraient le dernier type de neurones à se mettre en place. Leur silhouette rappelle celle des cellules à corbeilles, c'est pourquoi CAJAL (29) estime qu'elles sont de même nature mais qu'elles n'ont pas subi l'influence des cellules de Purkinje.

- le corps cellulaire est de taille légèrement inférieure à celle des cytones des cellules à corbeilles
- l'arborisation dendritique qui occupe la portion superficielle de la couche moléculaire est encore une fois dans un plan parallèle à celui occupé

par l'arbre dendritique des cellules de Purkinje.

- l'axone est plus court que dans le cas d'une cellule à corbeille; il n'émet généralement pas de collatérales et se termine par un bouquet de ramifications ascendantes.



Silhouette d'une cellule étoilée superficielle
(d'après - 11-)

2- Mise en place des éléments exogènes

Les éléments exogènes du cortex cérébelleux sont les parties distales d'axones issus de cellules nerveuses dont le corps cellulaire est situé dans d'autres régions du système nerveux central : ce sont les fibres afférentes.

Elles sont de deux types morphologiques :

.. les fibres moussues et

.. les fibres grimpantes.

a) Fibres grimpantes

Elles correspondent à des axones provenant essentiellement du complexe olivaire-bulbaire.

Elles cheminent dans la substance blanche sans émettre de collatérales et pénètrent la substance grise en restant myélinisées. Avant d'aborder la couche des cellules de Purkinje, elles émettent une collatérale dite " collatérale de Scheibel " (31) à destination des cellules de Golgi II. A l'abord des cellules de Purkinje, elles perdent leur gaîne de myéline , puis s'accolent littéralement aux cellules de Purkinje et se servent de leur ramure dendritique comme d'un tuteur pour pénétrer dans la couche moléculaire où elles se perdent sans atteindre la surface. (de là viendrait l'origine de la " *lamina dissecans* ", qui représenterait la zone transitoire de terminaison de ces fibres attendant en quelque sorte la différenciation des cellules de Purkinje).

On compte donc une fibre grimpante par cellule de Purkinje.

Les trajets et la structure fine de ces fibres est bien plus complexe. Les travaux de SCHEIBEL (31) les décrivent en détail.

b) Les fibres moussues

Elles ont des origines beaucoup plus variées : moelle, vestibule, protubérance, substance réticulée, corps striés....

Dans la substance blanche, elles émettent des collatérales qui se distribuent à toutes les faces des lamelles. A leur arrivée dans le cortex, elles perdent leur gaîne de myéline et se dispersent en de nombreux rameaux ne dépassant jamais la couche des grains. Elles se terminent de façon caractéristique par des "rosettes terminales " qui, d'après CAJAL (29), en technique nerveuse," les font ressembler à la mousse des arbres.

Ces terminaisons forment avec d'autres éléments de la couche des grains des structures synaptiques complexes , les glomérules cérébelleux, que nous étudierons en détail, ainsi que l'ensemble de la synaptologie , dans le chapitre de physiologie.

C) PARTICULARITES DE L'HISTOGENESE DANS L'ESPECE FELINE

Les grands traits de l'histogénèse d'un organe sont toujours identiques quel que soit le mammifère étudié. Ceci est vrai, en particulier, pour le cervelet et conduit à la mise en place d'une architecture du cortex cérébelleux commune à toutes les espèces. L'originalité du cervelet vient du fait qu'il existe, en fonction de l'espèce, une relation étroite entre le degré de développement atteint par cet organe à la naissance et les facultés locomotrices du nouveau-né.

Ainsi, le veau ou le cobaye nouveau-né, qui marchent et courrent sans problème dès la naissance, possèdent un cortex cérébelleux totalement mature ; par contre, chez l'enfant, les divers éléments sont pratiquement en place, mais ni le développement des ramifications dendritiques, ni l'extension des fibres exogènes ne sont achevés ; à l'autre extrémité, le chaton et le fureteau , très immatures à la naissance, présentent quant à eux une structure cérébelleuse dite " de type foetal " dont la caractéristique essentielle est que la couche granulaire externe est toujours présente et n'a pas encore terminé sa phase d'expansion.

Les quelques données qui vont suivre sont surtout issues d'études réalisées chez le chat (32) (25) (33) (3) ; mais parfois elles sont extrapolées à partir d'études réalisées chez le rat (3) (1) , espèce présentant, elle aussi, un cervelet de type foetal à la naissance. Par contre, la littérature est à notre connaissance muette en ce qui concerne le furet. Nos quelques observations personnelles donnent à penser que la chronologie de l'histogénèse est superposable chez le rat et chez le furet.(8)

Avant de décrire l'évolution post-natale du cortex, notons qu'à la naissance chez le chaton :

- la C.G.E. comprend de 4 à 7 assises cellulaires
- la couche moléculaire est quasi-virtuelle
- la couche des cellules de Purkinje est monostratifiée (ce qui corres-

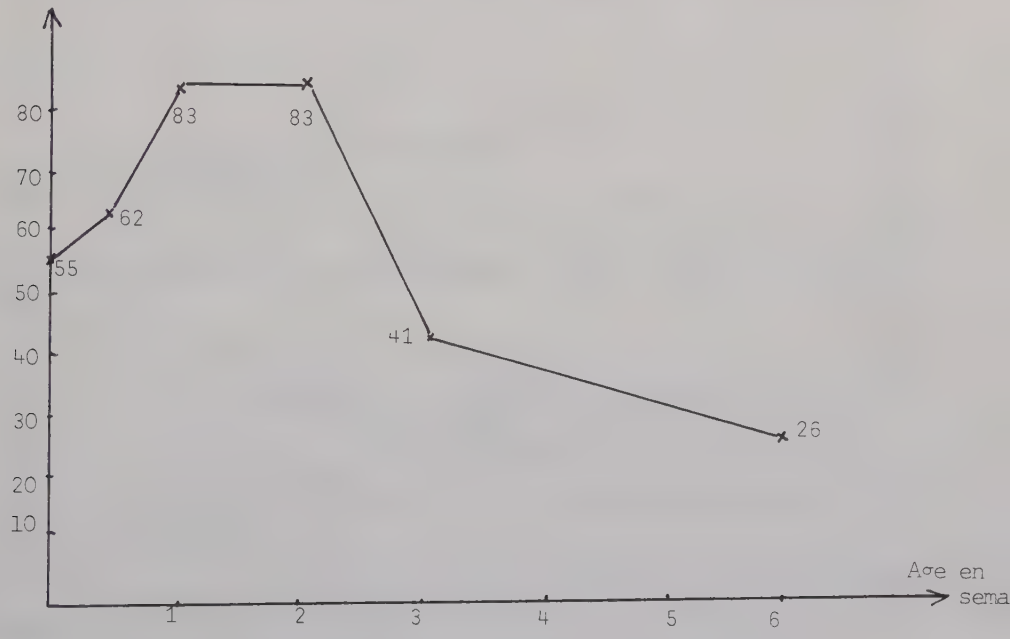
pond au fait que les fissures sont creusées)

- la couche des grains internes est moyennement peuplée.

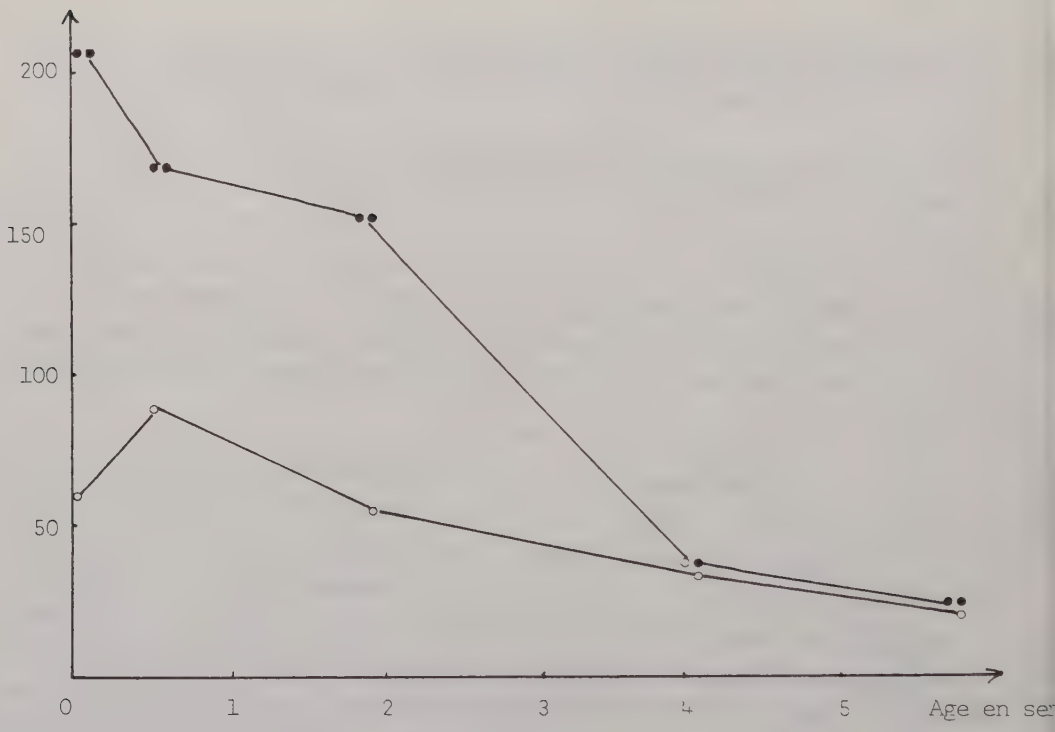
1- Evolution post-natale des divers éléments nerveux

a) C.G.E.

Les tableaux suivants montrent l'évolution de l'épaisseur de la C.G.E. chez le chaton pendant les neuf premières semaines et le nombre de mitoses observées dans 100 champs microscopiques pendant la même période.



Epaisseur en µm de la C.G.E. (déterminée par planimétrie)
(d'après - 33 -)



Nombre de mitoses pour 100 champs microscopiques
(grossissement x 1000)

(••) = mitoses sûres (°) mitoses douteuses
(d'après -3-)

A partir du 8e jour, la couche se divise en deux zones :
- l'une superficielle, où sont localisées les mitoses, c'est la " zone germinale superficielle " de CAJAL qui renferme des cellules arrondies

fort peu différenciées

- l'autre, plus profonde, apparaît " moins colorable " c'est-à-dire,en fait, que la densité cellulaire y est moindre. Elle renferme des cellules un peu différenciées, d'ores et déjà incapables de se diviser : c'est la " zone des cellules fusiformes horizontales " décrite par CAJAL (29).

Les auteurs plus récents (2) font référence à ces deux zones sous les appellations de " zone proliférative " et " zone prémigratrice " et ils expliquent ainsi le fait qu'entre la première et la deuxième semaine la C.G.E. conserve apparemment la même épaisseur alors que son dépeuplement est déjà bien avancé.

b) Migration des grains internes

Les colorations spécifiques mises en oeuvre par SMITH et DOWNS (33) sur des coupes sériées sagittales du cervelet de 22 chatons ont permis de préciser la chronologie des migrations et des modifications morphologiques des grains.

Leurs observations sont les suivantes :

- à la naissance, les grains sont localisés de la zone moléculaire à la couche des grains internes
- dès le 5e jour, tous les grains ont achevé leur migration
- au 15e jour, ils ont tous acquis les critères architecturaux de neurones mûrs. Les modifications ultérieures ne porteront que sur l'extension et la mise en relation des prolongements neuronaux.

Ces résultats montrent donc que tous les grains internes sont formés à la naissance, même s'ils n'ont pas tous achevé leur migration.

c) Cellules de Golgi II

Selon CAJAL (29) qui les appelle " grandes cellules étoilées de la couche des grains ", elles sont en place à la naissance. Le développement de leur ramure dendritique serait post-natal et il serait achevé vers le 15e jour.

d) Cellules de Purkinje

On admet que la couche des cellules de Purkinje est en place et monostratifiée bien avant la naissance (25). Par contre, le développement des ramures dendritiques est quasiment inexistant (la couche moléculaire est d'ailleurs virtuelle) et ne pourra avoir lieu qu'au fur et à mesure de la diminution d'épaisseur de la C.G.E. L'arbre dendritique n'atteindra sa pleine extension que vers le 4e mois (32).Toutefois, les travaux de PURPURA et coll. (28) tendent à prouver que la cellule de Purkinje atteint sa maturité au cours de la deuxième semaine de développement.

e) Les fibres exogènes

Les fibres moussues, toujours selon CAJAL (29)sont en place à la naissance, au coeur de la couche des grains déjà bien peuplée; néanmoins, elles ne présentent pas encore de rosaces terminales et la différenciation des glomérules cérébelleux ne commence qu'au 3e jour.

A la naissance, les fibres grimpantes se terminent au niveau de la couche des cellules de Purkinje avec lesquelles elles sont déjà entrées en relation (" phase du nid "). Par la suite, elles calquent leur développement sur celui de la ramure dendritique qui leur sert de support.

2- Chronologie de la différenciation en fonction de la topographie

Les séquences de l'histogénèse que nous venons de décrire ne sont pas rigoureusement simultanées en tous points du cervelet :

- d'une part, la C.G.E. persiste toujours plus longtemps au fond des sillons : il en résulte une différenciation,en général, plus tardive de ces zones
- d'autre part, il a été montré chez le rat (1) la séquence suivante
  - lingula et nodule sont matures avant le lobe rostral
  - le vermis est mature avant les hémisphères
  - le paraflocculus est la dernière zone à parvenir à maturité.

Cette séquence est probablement extrapolable au chat.

Enfin, la plupart des auteurs s'accordent à noter l'importance extrême des variations individuelles, y compris chez des animaux appartenant à une même portée.

Le cervelet du chaton à la naissance est donc de type foetal : il présente une forte activité mitotique au niveau de la C.G.E. et possède des cellules nerveuses fortement immatures (la plupart des grains et les cellules de Purkinje). Corrélativement, l'enregistrement de l'activité électrique montre alors un tracé quasiment plat (32). De plus, il existe un parallélisme net entre la différenciation de l'écorce cérébelleuse et le développement de la capacité mobile et de coordination (3).

III) APERCU DE LA PHYSIOLOGIE CEREBELLEUSE

L'uniformité structurale du cortex cérébelleux est à l'origine d'une organisation synaptique identique en tous ses points. La complexité du fonctionnement cérébelleux provient, par contre, de la grande variété de ses connexions avec le reste du système nerveux central.

Etudions, dans un premier temps, l'histophysiologie du cortex, qui découle de l'organisation synaptique; puis nous aborderons l'anatomo-physiologie et les connexions. Enfin, nous tenterons de résumer les mécanismes d'action.

A) ORGANISATION SYNAPTIQUE

La grande uniformité de structure du cortex cérébelleux permet de le considérer comme un ensemble d'unités élémentaires, chacune centrée par une cellule de Purkinje.

1- Voies afférentes

Qu'il s'agisse des fibres moussues ou des fibres grimpantes, elles sont activatrices du cortex cérébelleux.

a) Activatrices de la cellule de Purkinje

Chaque cellule de Purkinje est activée par les deux types d'afférences du cortex :

- les fibres grimpantes activent directement les dendrites des cellules de Purkinje, à raison d'une fibre par cellule
- les fibres moussues activent les dendrites des grains internes du cervelet au niveau de structures complexes, les glomérules cérébelleux, que nous décrirons par la suite. L'influx activateur est transmis à l'arbre dendritique des cellules de Purkinje par le biais des fibres parallèles.

Donc les fibres moussues activent les cellules de Purkinje par

l'intermédiaire des grains internes.

b) Activatrices des cellules de la couche moléculaire

De la même façon , les cellules à corbeilles et les cellules étoilées superficielles sont activées par les deux types d'afférences:

- directement, au niveau de leur cytone, par les terminaisons de fibres grimpantes
- indirectement , au niveau de leur arbre dendritique, par les fibres parallèles issues des grains internes.

c) Activatrices des cellules de Golgi II

Ce type cellulaire est, lui aussi, activé par les deux types d'afférences :

- directement de deux manières :
  - -- au niveau du cytone par la " collatérale de Scheibel", qui est issue d'une fibre grimpante
  - -- au niveau de certains de ses dendrites qui rentrent dans l'organisation des glomérules cérébelleux et y font synapse avec les rosettes terminales des fibres moussues
- indirectement de la même façon que les autres types cellulaires, c'est-à-dire par les fibres parallèles des grains internes.

L'influx activateur majeur emprunterait d'ailleurs ces voies.

2- Les voies inhibitrices de la cellule de Purkinje

a) Directes

Elles proviennent soit des cellules étoilées superficielles et réalisent alors des synapses axo-dendritiques, soit des cellules à corbeilles et réalisent alors des synapses axo-somatiques.

b) Indirectes

Il existe un rétrocontrôle négatif du système activateur " fibres moussues- grains internes " par l'intermédiaire des cellules de Golgi II. En effet, au niveau du glomérule cérébelleux, nous avons mis en place :

- la rosette terminale de la fibre moussue
- les terminaisons dendritiques de nombreux grains
- une terminaison dendritique de cellule de Golgi II.

Il existe un quatrième élément rentrant dans la structure du glomérule cérébelleux : il s'agit d'une terminaison d'axone de cellule de Golgi II.

La cellule de Golgi II inhibe ainsi par un système de " feed-back" l'activation des grains par les fibres moussues, donc l'activation de la cellule de Purkinje.

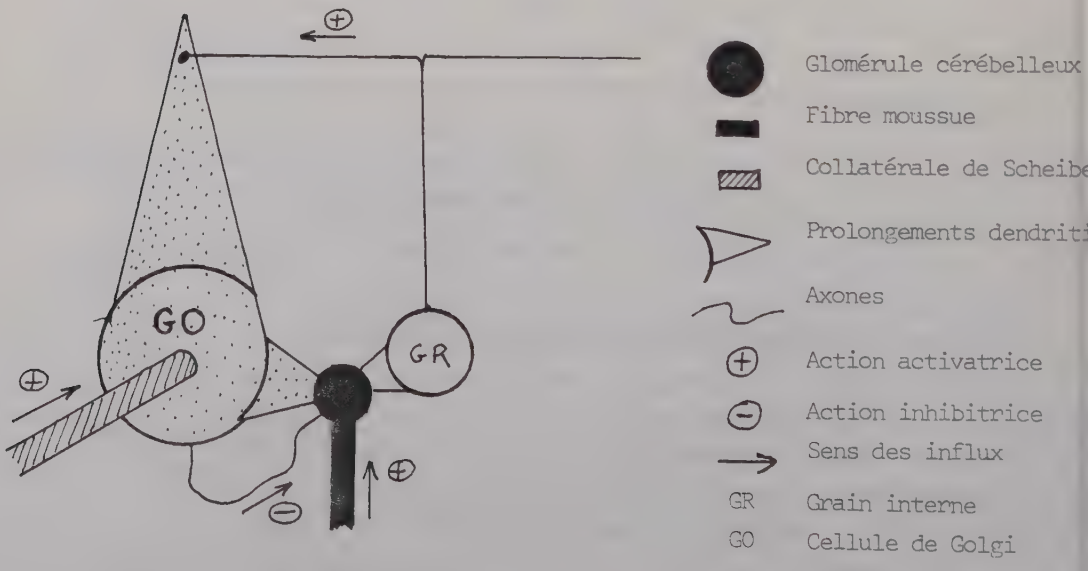


Diagramme résumant l'organisation synaptique des cellules de Golgi II

3- Les voies efférentes

Les seules efférences issues du cortex sont les axones des cellules de Purkinje qui établissent le plus souvent des contacts synaptiques avec les neurones des noyaux cérébelleux profonds. Leur effet est inhibiteur.

L'étude de l'organisation synaptique montre donc que le cortex cérébelleux est hautement différencié et que son histophysiologie est dominée par la présence de systèmes de rétrocontrôles, ce qui laisse deviner une fonction de régulation des influx nerveux. (voir schéma p. 36)

B) ANATOMO.PHYSIOLOGIE DU CERVELET

Nous avons regroupé dans ce chapitre une étude sommaire des connexions du cervelet avec le reste du système nerveux central.

Lors de l'étude de l'organogénèse , nous avons introduit les notions d'archéocervelet, de paléocervelet et de néocervelet (cf. p. Nous avons fondé ces distinctions sur des bases anatomiques (sillons) et des données phylogénétiques. Leur corrélation physiologique est l'existence de types de connexions propres à chacun de ces territoires, dont nous nous bornerons à décrire les plus classiques.

1- Les connexions cérébelleuses principales

a) L'archéocervelet

Encore appelé " cervelet vestibulaire", il correspond anatomiquement au lobe flocculo-nodulaire.

- il reçoit des afférences labyrinthiques par l'intermédiaire du faisceau vestibulo-cérébelleux
- il émet des éfférences cérebello-vestibulaires et cérébello-réticulaires sans relais dans les noyaux gris centraux

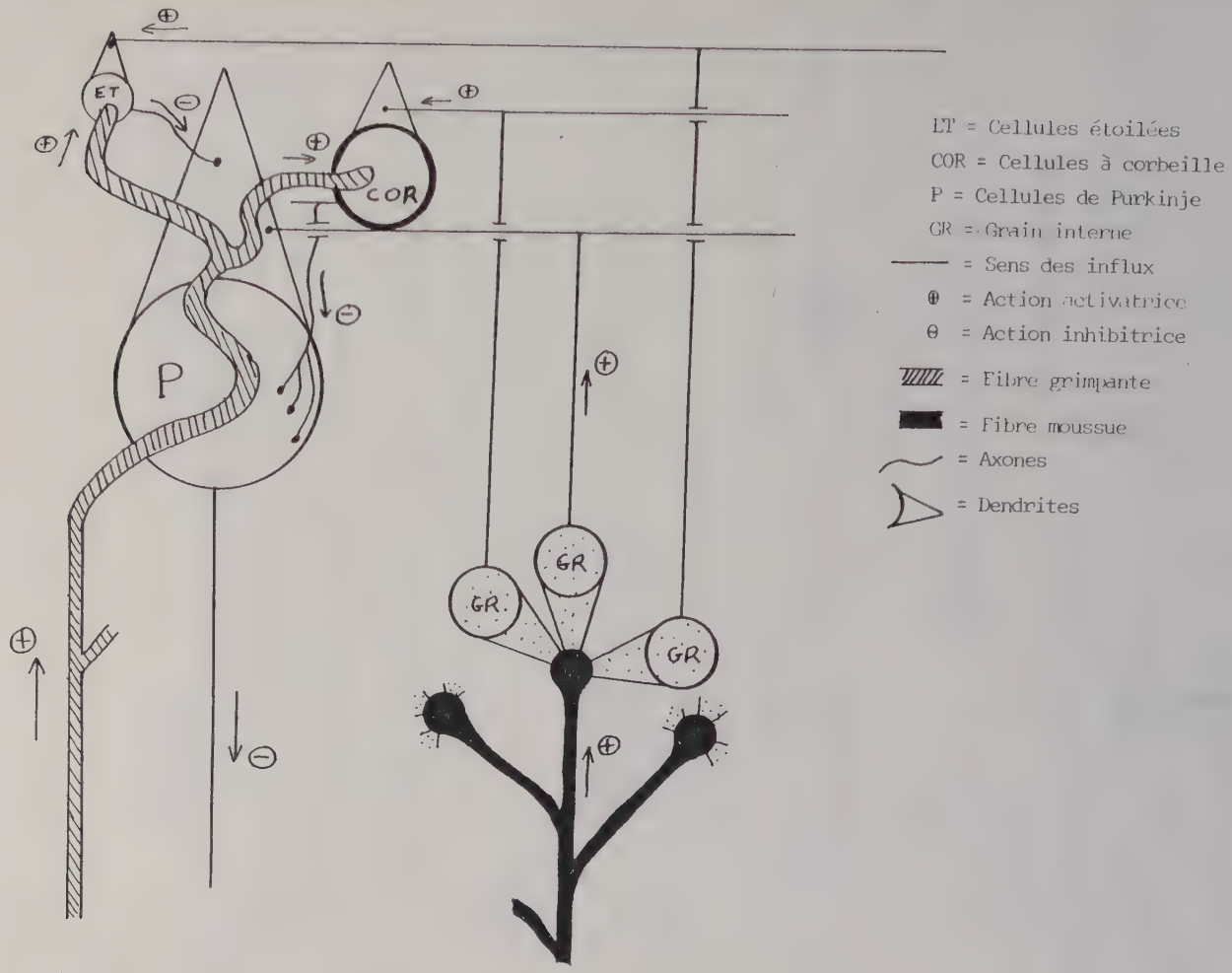


Diagramme simplifié résumant l'organisation synaptique du cortex cérébelleux
(la cellule de Golgi n'est pas représentée).

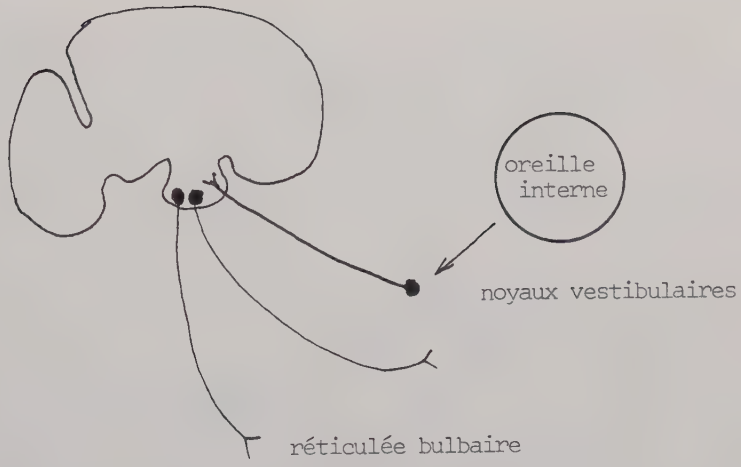


Schéma des connexions de l'archéocervelet
(d'après -26-)

- il intervient dans la régulation du tonus des muscles axiaux donc dans le maintien de l'équilibre statique

b) Le paléocervelet

Encore appelé " cervelet bulbo-spinal ", il comprend vers l'avant le lobe antérieur et le lobule simplex et vers l'arrière la pyramide, l'uvula et la tonsille (para-flocculus)

- il reçoit des afférences :
  . spinocérébelleuses, issues des colonnes de Clarke et du faisceau ventral de Gowertz, conduisant des influx proprioceptifs (musculaires et tendineux) et selon certains, extéroceptifs (cutanés) : ils sont à l'origine d'une sensibilité inconsciente
  . bulbo-cérébelleuses , issues du faisceau trigémino-cérébelleux et conduisant des influx proprioceptifs et extéroceptifs à l'origine de la sensibilité consciente

- ses efférences font relais dans les noyaux interposés. Elles sont vestibulaires et réticulaires.

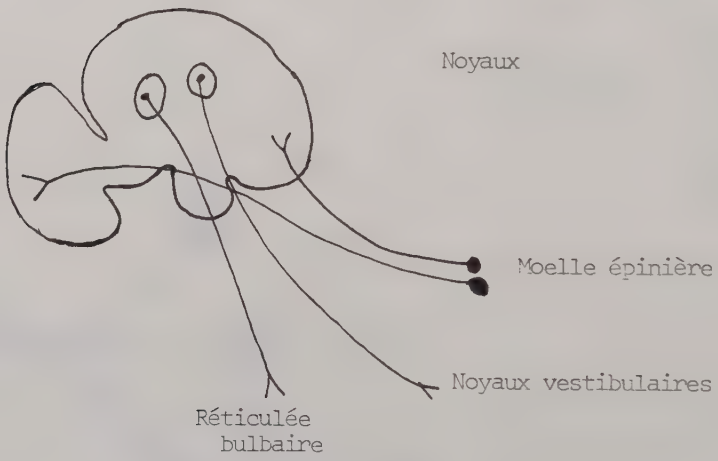


Schéma des connexions du paléocervelet
(d'après -26-)

- il intervient dans la régulation du tonus postural antigravitationnel des muscles axiaux et extenseurs des membres, donc dans le maintien de l'équilibre dynamique

c) Le néocervelet

Encore appelé le " cervelet cérébral ", il correspond à la plus grande partie du lobe postérieur (lobe ansiforme, déclive , crus I, crus II et lobule paramédian).

- il reçoit des afférences :
  : de l'olive bulbaire
  . de la substance réticulée
  . des corps striés
  . des noyaux du toit

de plus, il est très richement connecté au cortex cérébral par des afférences cortico-pontiques , classiquement décrites comme réalisant une projection point par point sur le cortex cérébelleux

- il émet des efférences vers l'olive bulbaire, la substance réticulée le thalamus et les noyaux rouges

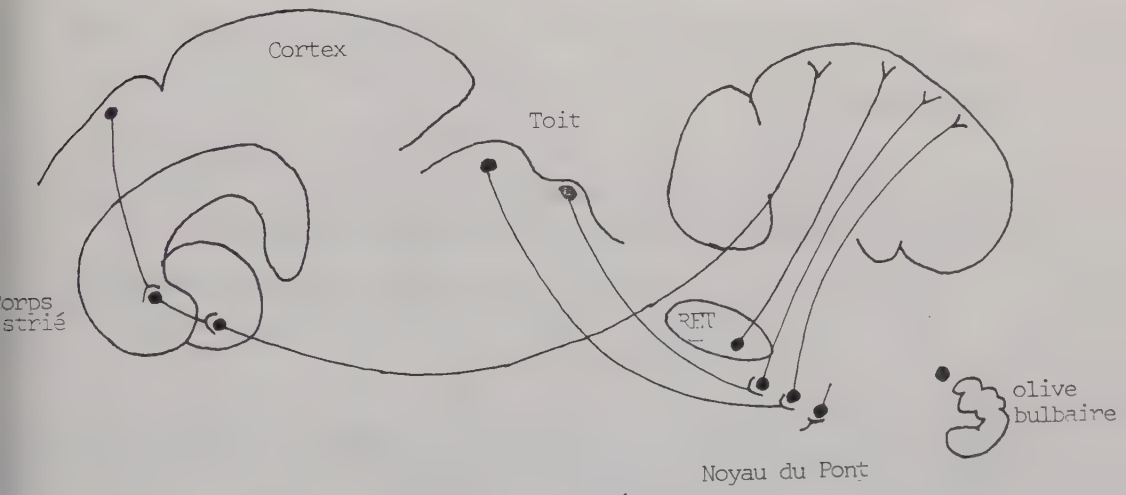


Diagramme des afférences

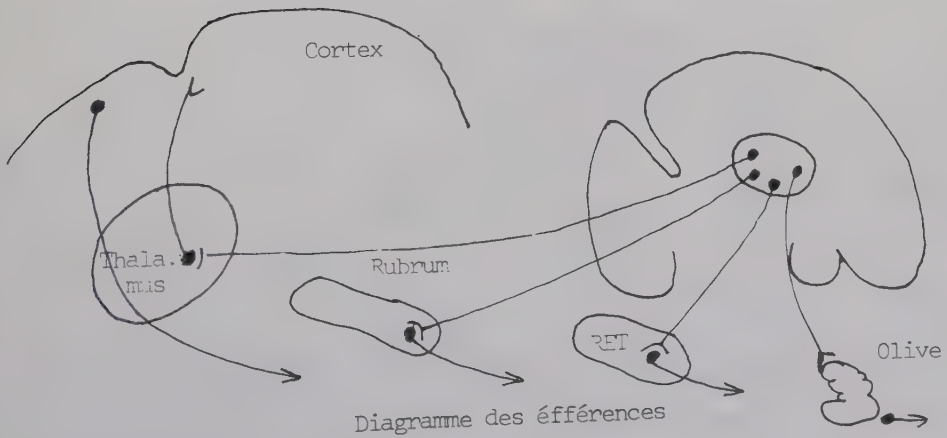


Diagramme des éfférences

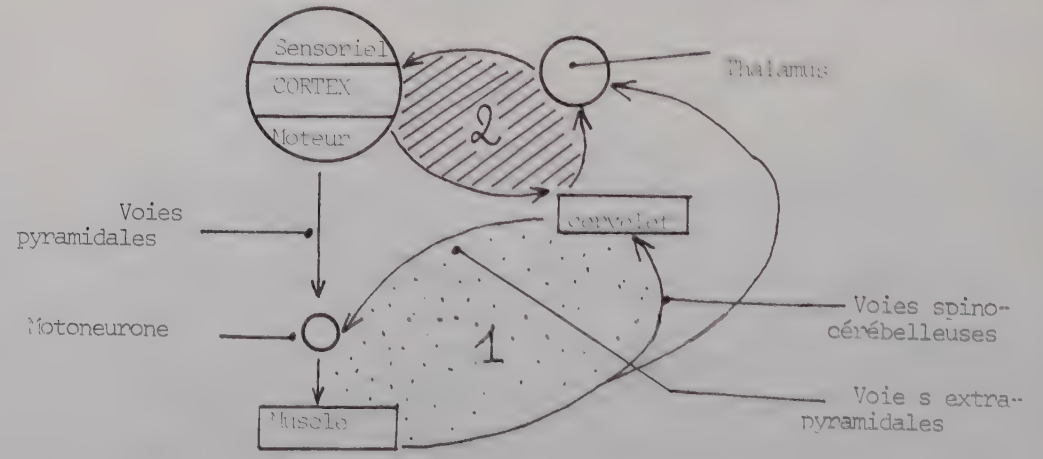
Le néocervelet apparaît donc comme étant typiquement situé en dérivation par rapport au cortex cérébral. Il agit, effectivement, comme un " petit cerveau " et présente une fonction motrice nette.

2- Fonctionnement du cervelet

Les connexions qu nous venons de décrire établissent des circuits plus ou moins compliqués, que l'on peut schématiser comme appartenant à deux catégories :

- d'une part, certaines connexions amènent au cervelet des messages labyrinthiques ou somatiques qu'il projette vers le tronc cérébral ou la moelle (cf. circuit n°1 du schéma ci-dessous
- d'autre part, les autres lui distribuent des influx corticaux qu'il répercute sur le cortex cérébral ou la moelle (cf. circuit n°2 du schéma ci-dessous.

Ainsi ,si nous prenons l'exemple d'un mouvement volontaire, nous pouvons représenter schématiquement ces circuits :



(d'après -24-)

Il apparaît donc que le cervelet est en dérivation sur les voies sensorielles et motrices. Il joue le rôle d'un système supra-segmentaire, régulateur des influx . Corrélativement, les transmissions essentielles ne sont pas interrompues lors de décérébellation ou d'hypoplasie cérébelleuse.

Ces divers rappels sur le cervelet nous permettent de noter :

- que le cervelet n'est pas un organe vital
- qu'il réalise essentiellement des fonctions de contrôle des influx nerveux
- qu'il existe un rapport évident entre le degré de maturité du cervelet et les facultés motrices du nouveau-né et qu'en particulier le cervelet de chat est très immature à la naissance.

Deuxième Partie

ETUDE EXPÉRIMENTALE

Les premières observations mettant en évidence une hypoplasie cérébelleuse chez un chaton atteint du syndrome ataxie remontent à 1888 (23) . Depuis lors, de nombreux auteurs ont cherché à reproduire l'affection afin d'en préciser l'étiologie et d'en étudier les mécanismes pathogéniques.

Ainsi, les travaux de WILLIAM et MARGOLIS (19) ont établi que dans les conditions naturelles, l'ataxie cérébelleuse spontanée du chaton était due à une infection *in utero* de l'animal par le parvovirus de la panleucopénie infectieuse féline (que nous noterons désormais : F.P.V.). De plus, ces auteurs reproduisirent expérimentalement l'ataxie cérébelleuse en inoculant au foetus ou au nouveau-né des souches hétérologues de parvoviridae : le Rat Virus (RV) chez le chaton (16) ou encore le F.P.V chez le furet eau (13).

Notre travail, mené à l'animalerie de l'IFFA-MERIEUX à Lyon, vise à reproduire une hypoplasie cérébelleuse chez le chaton ou le furet eau par inoculation à la naissance de diverses souches de parvoviridae et à en étudier l'aspect morphologique au moyen de différentes

techniques histologiques.

L'originalité de l'étude réside dans le choix des souches virales ainsi testées.

I) MATERIEL ET METHODES

A) ANIMAUX

Les chattes et les furettes gravides provenaient de l'élevage de l'IFFA-MERIEUX (ferme de Lentilly). Elles étaient introduites en zone contaminée environ 15 jours avant la date présumée de mise-bas. L'expérimentation a porté sur 16 chatons issus de 4 portées et sur 18 furets issus de 8 portées.

B) INOCULATIONS

1- Protocole

Les nouveau-nés ont reçu à la naissance par voie sous-cutanée un inoculum de 1 ml pour les chatons et de 0,5 ml pour les fureteaux contenant une souche de parvovirus dont le titre infectieux ,évalué par le pouvoir hémagglutinant (cf. p.47) , était compris entre 3,9 et 5,8 (à titre de comparaison le titre infectieux de la souche vaccinale (F.P.V modifiée FELINIFFA ND) est de 6.

2- Souches virales utilisées

a) chez les chatons

- parvovirus du vison : souche MEV 35, provenant de l'Université Cornell (USA). C'est une souche virulente
- parvovirus du chat : souche FPV-PLI IV, de l'Iffa-Mérieux . C'est une souche modifiée, utilisée comme souche vaccinale chez le chat (FELINIFFA ND).

- parvovirus du chien : souche CPV 780-916, modifiée provenant de l'Université Cornell (PARVODOG ND).

b) chez les furetaux

- parvovirus du vison : souches MEV 35 et MEV " Wolf-Stool ", toutes deux produites par l'Université Cornell et toutes deux virulentes
- parvovirus du chat : souche modifiée FPV-PLI IV
- parvovirus du chien : souche modifiée CPV-NHA (non hémagglutinante)
  souche CPV 780 916 déjà décrite

C) PRELEVEMENTS

1- Mode de sacrifice

a) Age

Dans la mesure où les portées étaient suffisamment grandes, il a été pratiqué :

- un sacrifice 8 jours post inoculation
- un sacrifice 14 jours post inoculation
- un sacrifice 3 semaines post inoculation
- un sacrifice 6/7 semaines post inoculation

Le premier sacrifice permet la recherche de corps d'inclusion, les deux suivants permettent de suivre l'évolution d'une éventuelle hypoplasie cérébelleuse; enfin, le dernier est réalisé plus tardivement de façon à ce qu'une éventuelle ataxie puisse être mise en évidence à l'examen clinique.

Ce protocole n'a pu être réalisé dans nombre de portées de furets: en effet, il apparaissait, à la suite du premier sacrifice, une mortalité subite

et suspecte, sans signes cliniques, de toute la portée restant avec la mère.

b) Protocole de sacrifice

Après anesthésie générale par injection intra-musculaire d'un mélange d'Acépromazine (VETRANQUIL ND) 1 mg /kg de poids vif et de Kétamine (IMALGENE ND) à la dose de 20 mg/kg, l'animal est placé en décubitus dorsal. Les veines jugulaires sont isolées. On réalise alors un volet costal large: le vide pleural disparaît et il s'ensuit une détresse respiratoire aiguë et une tachycardie compensatoire. L'apex du coeur est alors coupé transversalement; on réalise, si possible, un prélèvement de sang, puis l'on cathétérise le départ de l'aorte et la carotide en introduisant la canule par le ventricule gauche en suivant la paroi inter-ventriculaire. Les jugulaires sont alors coupées et l'on installe la perfusion de liquide fixateur à une hauteur d'environ un mètre. Cette perfusion, d'environ 250 ml, va s'écouler pendant une demi-heure.

La fixation du système nerveux central par perfusion est décrite classiquement dans la littérature (15) (34). Après perfusion, l'animal est décérébré et le cervelet est conservé dans le liquide fixateur.

Chez les fureteaux, très petits à la naissance, la perfusion n'a pu être mise en place. Aussi, la fixation a été faite après décérébration; d'autre part, le prélèvement sanguin n' a pu être réalisé.

2- Liquide fixateur

Nous avons choisi d'utiliser une fixation au glutaraldéhyde car les techniques histologiques envisagées comprenaient initialement une étude au microscope électronique.

La solution perfusée doit répondre à deux critères : elle doit avoir un pH voisin de la neutralité et une osmolarité comprise entre 400 et 500 milliosmol./litre de solution. D'autre part, le fixateur doit être

à une concentration de 2 à 3%.

Nous avons donc utilisé une solution de glutaraldéhyde à 2,5% dans un tampon Sorensen à pH 7,4.

Le calcul théorique de l'osmolarité d'une telle solution figure en annexe II.

La solution a été contrôlée au pH mètre et à l'osmolalimètre.

Nous y avons ajouté quelques gouttes d'anticoagulant afin d'éviter la formation de caillots pendant la perfusion.

D) DEVENIR DES PRELEVEMENTS

1- Prélèvements sanguins

Les parvoviridae induisent la formation d'anticorps neutralisants, fixant le complément et inhibant l'hémagglutination : c'est cette dernière propriété qui a été utilisée pour titrer les anticorps anti parvovirus présents dans le sérum des animaux inoculés.

En effet, les parvovirus ont un pouvoir agglutinant vis-à-vis des érythrocytes, en particulier, des érythrocytes de porc. Les anticorps correspondants inhibent cette hémagglutination (5)

De plus, il existe une parenté antigénique entre les différents parvoviridae : c'est pourquoi, dans notre étude, nous avons titré les sérums, quel que soit le parvovirus inoculé, par évaluation de l'inhibition du pouvoir hémagglutinant du parvovirus canin.

La technique de titrage a été décrite par d'éminents virologues (9). Les résultants sont exprimés par le logarythme décimal de la dernière dilution de sérum inhibant totalement l'hémagglutination.

2- Cervelets

a) Examen macroscopique

Cet examen n'a été réalisé que sur les animaux les plus âgés. Il consistait à apprécier si les cervelets examinés présentaient une hypoplasie

macroscopiquement décelable. Nous les avons classés en trois catégories : les cervelets apparemment normaux, ceux présentant une hypoplasie légère et ceux présentant une hypoplasie marquée.

b) Examen en microscopie électronique

Il s'agissait de mettre en évidence d'éventuelles particules virales dans les cellules de Purkinje. Ce type d'examen a été uniquement réalisé sur les chatons sacrifiés au 8e jour.

Le prélèvement a été effectué au niveau médian du vermis. La technique utilisée est celle classique d'inclusion dans un mélange d'épon-araldite. Les coupes semi-fines étaient colorées au bleu de méthylène.

c) Examen en microscopie photonique

La technique utilisée est celle classique d'inclusion en paraffine.

&) incidence de coupe : nous avons choisi de réaliser des coupes sagittales, c'est-à-dire passant par le plan médian du vermis

&) colorations : deux colorations ont été utilisées.

- Hémalun-éosine
- Luxol-Fast blue/violet de crésyl , dont la technique est décrite en annexe III. Le Luxol Fast blue colore en bleu vert les gaînes de myéline et le violet de crésyl colore noyaux et corps de Nissl en violet.

&) Lésions microscopiques recherchées :

- les observations histopathologiques décrites dans la littérature (6) (7) (18) qu'il s'agisse d'hypoplasies cérébelleuses spontanées ou provoquées, nous ont amené à focaliser l'examen microscopique sur les quatre points suivants :

  ✗ la présence d'éventuelles inclusions intra nucléaires (Cowdry type A) (éosinophiles) signes de l'effet cytopathogène du parvo virus.

En effet les parvovirus sont des virus à ADN et leur site de réplication est le noyau de la cellule infectée.

Nous les rechercherons principalement dans les cellules de la couche granulaire externe chez les animaux sacrifiés au 8e jour. En effet, ces inclusions apparaissent 3 à 5 jours post inoculation pour disparaître vers le 12e jour (6).

- l'intégrité de la C.G.E.
  il est, en effet, classique de considérer que les parvovirus répliquent dans des cellules en voie de division. La C.G.E. est donc à priori une cible idéale de par sa richesse en mitoses.
- l'intégrité de la couche des cellules de Purkinje, car certains auteurs ont décrit des désordres architecturaux, comme non alignement des cytones (18), ou même une diminution du nombre des cellules (6).
- la densité de la couche des grains internes - compte tenu de la chronologie de sa formation, décrite par SMITH (33) et de l'action élective des parvovirus pour les cellules en division, cette couche ne devrait pas être altérée.

II) RESULTATS

A) PRESENTATION

Nous avons regroupé les résultats dans le tableau ci-contre :
Les codes suivants ont été utilisés

Espèce : CT = chat
F = furet

Souche virale :
parvovirus du vison : MEV 35 = A
MEV Wolf-Stool = B

parvovirus du chien : CPV 780-916 = C
CPV NHA = D
parvovirus du chat : FPV PLI 4 = E
témoin = O

Locomotion

A = ataxique
N = normale

Examen macroscopique :

N = normal
H = hypoplasie marquée
L = hypoplasie légère

Examen microscopique : codifié de 0 à +++
(en fonction de l'importance de la lésion)

TABLEAU

Numéro de Portée	Espèce	Souche virale	Titre infectieux	âge au sacrifice (en jours)	Titre IHA (log.10)	Locomotion	Macroscopie	Microsconie électronique	Examen microscopique			
									Inclusion	C.G.E.	Cellule de Purkinje	Grains internes
I	CT	A	4	8	1.3	-	-	0	0	0	0	0
				15	1,3	-	-	-	-	++	+	0
				22	1,6	-	-	-	-	++	++	+
				43	1,6	A	L	-	-	+++	+++	+
II	CT	B	5,25	8	-	-	-	-	0	0	0	0
				15	-	-	-	-	-	0	+	0
				22	1,3	-	-	-	-	0	+	0
				43	1,6	N	.C.	-	-	0	+	0
III	CT	C	3,6	8	1,6	-	-	-	0	0	0	0
				15	1,6	-		-	-	0	+	0
				29	1.6	-	-	-	-	0	+	0
				56	1,9	N	0	-	-	0	+	0

Portée IV - Témoin négatif

Numéro de Portée	Espèce	Souche virale	Titre infectieux	âge au sacrifice (en jours)	Titre IHA	Locomotion	Macroscopie	Examen microscopique				
								Microsconie électronique	Inclusions	C.C.E.	Cellules de Purkinje	Grains internes
V	FT	C	3,6	9	-	-	N	-	0	NI	NI	NI
VI	FT	C	3,6	12	-	-	-	-	0	NI	NI	NI
				22	-	-	-	-	-	0	0	0
				53	1,9	N		-	-	0	0	0
VII	FT	E	5,4	8	-	-	-	-	0	NI	NI	NI
				16	-	-	-	-	-	+	+	+
				70	2,5	N	N	-	-	0	+	+
VIII	FT	A	4	10	-	-	-	-	0	NI	NI	NI
IX	FT	B	4	8	-	-	-	-	0	+	+	+
				16	-	-	-	-	-	++	++	++
				57a	2,2	A	H	-	-	0	+++	+++
				57b	2,2	A	L	-	-	0	+++	+++
X	FT	D	5,7	7	-	-	-	-	0	NI	NI	NI
				15	-	-	-	-	-	0	0	0
XI	FT	E	5,4	10	-	-	-	-	0	NI	NI	NI
				95	2,2	A	L	-	-	0	+	0

NI = non interprétable

Désormais, nous désignerons un animal par son numéro de portée (en chiffre romain) et son jour de sacrifice (en chiffre arabe)

Exemple : II/14 : chaton de la deuxième portée sacrifié le 14e jour post inoculation.

B) COMMENTAIRES

1- Examen clinique

Les divers animaux que nous avons pu observer cliniquement n'ont jamais présenté des signes sévères d'ataxie bien que l'examen macroscopique nous montrât parfois, par la suite, une hypoplasie cérébelleuse marquée. C'est le cas pour le chaton I/43.

Les signes d'ataxie nous ont même semblé régresser quelque peu avec l'âge. Ainsi, le fureteau XI/95 ne présentait plus, au moment du sacrifice, qu'une légère maladresse dans les mouvements et, en particulier, une impression de faiblesse du train postérieur.

D'ailleurs, d'une façon générale, le tableau clinique était dominé par des difficultés de ces animaux à redresser leur arrière-train, les membres postérieurs restant étendus sur le côté. Conséquemment la démarche était lente et en zig-zag. D'autre part, nous avons pu souvent observer des trémulations des muscles du cou entraînant un port de tête peu assuré, comme si la tête était trop lourde pour l'animal.

2- Examen sérologique

Quel que soit le parvovirus inoculé, nous avons testé le sérum en réaction d'inhibition non spécifique du pouvoir hémagglutinogène du CPV, utilisant là les propriétés antigéniques croisées entre les différents parvoviridae.

Habituellement, le titre minimal pour qu'un sérum soit reconnu positif en IHA est de 2. Mais, ce chiffre correspond à une réaction spécifique. Dans le cas de nos réactions non spécifiques, les titres obtenus, généralement inférieurs à 2 seront néanmoins considérés comme suffisants

pour témoigner de l'infection post inoculation.

3- Examen macroscopique

Divers degrés dans l'hypoplasie ont été observés, depuis une diminution légère du volume cérébelleux par rapport au reste du système nerveux (XI/95) jusqu'à la disparition quasi-totale du vermis, les méninges formant alors une sorte de membrane kystique (IX/57a)

Ces lésions n'ont pu être observées véritablement que chez les animaux les plus âgés; les plus sévères sont apparues chez les animaux inoculés au MEV 35, c'est-à-dire, la seule souche virulente utilisée.

Nous n'avons pas noté de corrélation entre la sévérité de la lésion macroscopique et le degré d'ataxie, ce qui rejoint les observations de CSIZA (7). Ainsi l'ataxie n'était pas plus marquée chez le furet IX/57a que chez le IX/57b, alors que le premier présentait une lésion très conséquente

Ceci nous permet d'ailleurs de noter l'existence de variations individuelles dans l'expression lésionnelle, y compris à l'intérieur d'une même portée, ce qui est à rapprocher des différences de degré du développement cérébelleux à la naissance (hypothétiquement attribuées au rang occupé par le foetus dans l'utérus et donc à la différence de qualité de la nutrition transplacentaire (32)

4- Examen en microscopie électronique

Il n'est pas étonnant que ces examens se soient soldés par un échec compte-tenu du petit nombre de prélèvements : il faut, en effet, multiplier les observations en microscopie électronique pour espérer parvenir à un résultat.

5- Examens en microscopie photonique

D'une façon générale, les cervelets dont l'hypoplasie était macroscopiquement décelable(du type III/56) nous ont fourni d'excellents témoins de lésions microscopiques (cf. photos n°s 7 et 8). D'autre part, il est rare que l'hypoplasie atteigne l'ensemble du cervelet; ainsi la juxtaposition de zones lésées avec des zones saines a facilité le diagnostic, l'animal étant en quelque sorte son propre témoin.

Les lésions discrètes ont été rencontrées préférentiellement au sommet des lamelles.

a) Inclusions

Nous n'avons jamais vu avec certitude les corps d'inclusion tant décrits dans la littérature. Toutefois, divers auteurs ont souligné que ces inclusions nétaient pas visibles dans le cervelet fixé au formol alors qu'elles étaient évidentes quand il était fixé au bouin (6) (19). Il est donc possible que ce résultat négatif soit dû au choix du glutaraldéhyde.

b) Cellules de Purkinje

Nous avons retrouvé les lésions décrites par CSIZA (6). L'absence des cellules de Purkinje est frappante dans les cas d'hypoplasie marquée (cf. photo n°8) et elle s'accompagne d'une quasi-absence de couche moléculaire du fait, entre autre, de l'absence des ramures dendritiques de ces cellules.

Dans les cas plus légers d'hypoplasie (XI/95), ce critère nous a semblé intéressant, pour le diagnostic, car il est facilement repérable du fait de la régularité de la couche.

Toutefois, étant donné que chez le furet, la couche n'est pas encore monostratifiée à la naissance, il faut utiliser avec précaution le critère de non alignement.

c) C.G.E. et couche des grains internes

Si la disparition (ou la diminution notable de densité) de ces deux couches est particulièrement patente dans les cas d'hypoplasie marquée (I/43 - IX/57a), les diminutions d'épaisseur et de densité cellulaire lors d'atteintes plus subtiles sont particulièrement difficiles à mettre en évidence, d'autant plus que les variations d'épaisseur en fonction de la localisation sont normales chez les témoins (cf. photo n°3).

III) DISCUSSION

Classiquement, les parvoviridae sont connus pour répliquer dans des cellules en division en y manifestant une action mitolytique. Il en résulte dès lors une attaque préférentielle d'organes à haute activité mitotique et à ce titre,comme le montrent les travaux de Von BERRY(3), la C.G.E. du cervelet est une cible privilégiée chez le chat en période néonatale.

D'autre part, il est désormais établi qu'une infection congénitale par le F.P.V. chez le chat ou par le MEV chez le vison etc... est à l'origine d'une hypoplasie cérébelleuse. Est-ce à dire qu'il existe, pour les parvoviridae, un tropisme nerveux ?

Avant de l'affirmer, il nous faut noter :

- que dans les mêmes conditions que notre expérimentation, c'est-à-dire injections néonatales de parvoviridae, des particules virales ont été retrouvées dans d'autres organes, en particulier, le tube digestif et les reins (6) (16).
- que chez l'adulte, ces mêmes parvoviridae se manifestent tout autrement (exemple : panleucopénie infectieuse chez le chat, dominée par des problèmes digestifs et sanguins)

- qu'enfin, la conséquence d'une infection congénitale par les parvovirus est variable en fonction de l'âge foetal au moment de la maladie; si la manifestation la plus connue est l'ataxie, c'est parce qu'elle est la seule viable. KILHAM a montré, en effet, qu'une infection plus précoce, à une période ou l'organogénèse bat son " " plein" est létale.

Donc, on ne peut parler de tropisme nerveux. Si les manifestations nerveuses sont les plus tangibles, c'est que ce tissu n'a aucun pouvoir de réparation et donc qu'il exprime rapidement une atteinte, et que d'autre part, à une période où l'organogénèse est achevée à peu près partout dans l'organisme, le tissu nerveux, et plus particulièrement le cervelet, en est encore à une période critique.

Mais l'action mitolytique, si elle explique à elle seule l'apparition d'une hypoplasie cérébelleuse granuloprive congénitale, ne peut, par contre, être tenue pour seule responsable des troubles occasionnés par des injections néonatales. En effet, si l'on accepte la chronologie de la formation des grains internes proposée par SMITH et DOWNS (33), alors il n'est pas possible qu'une injection néonatale de parvovirus entraîne une diminution du nombre de ces cellules, puisqu'elles sont toutes déjà en migration et ont perdu leur pouvoir de mitose.

De la même façon, les cellules de Purkinje sont quelque peu différenciées et incapables de se diviser. Et pourtant, nous avons observé des hypoplasies granuloprives, de plus, accompagnées d'une diminution du nombre de cellules de Purkinje.

Deux hypothèses sont avancées :

- soit la réplication du virus se fait dans les cellules endothéliales entraînant alors des phénomènes d'ischémie et des souffrances neuronales

- soit la réplication est possible dans des cellules immatures telles que cellules de Purkinje ou la plupart des grains internes.

CSIZA (7) retient cette dernière hypothèse : il a, en effet, mis en évidence des particules virales dans les cellules de Purkinje.

Dès lors, si certaines cellules de Purkinje disparaissent, il est évident que le cervelet n'assume plus complètement ses fonctions.

Du fait de cette lésion des cellules de Purkinje, LAHUNTA (22) propose d'ailleurs de remplacer le terme d'"hypoplasie cérébelleuse " par celui de " dégénérescence cérébelleuse ".

Conclusion

Le but de ce travail était de provoquer des lésions d'hypoplasie cérébelleuse et d'en étudier les aspects morphologiques. Il a été atteint par inoculations néonatales chez le chat et le furet du MEV 3 (parvovirus du vison) et de la souche atténuée PLI 4 du FPV (parvovirus de chat) qui manifeste ainsi un pouvoir pathogène résiduel.

Le type de lésion observé confronté aux données de l'histogénèse cérébelleuse permet de penser que les parvoviridae, outre leur action mitolytique, expriment aussi leur pouvoir pathogène à l'égard de cellules immatures telles que les cellules de Purkinje.

VU : Le Directeur de
l'Ecole Vétérinaire
Pr. LAUTIE

VU, le Rapporteur de la Thèse
Pr. CABANIE

VU : Le Président de la Thèse
Pr. GUILHEM

Pr André GUILHEM
Laboratoire d'Histologie
Embryologie - Cytologie
FACULTE de MEDECINE
RANGUEIL
133, route de Narbonne
31400 TOULOUSE

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 13 1.1 -19[illegible]
Le Président de l'Université Paul Sabatier

Professeur D. BANCEL

Photo 1 - Luxol Fast blue-Violet de crésyl (L-V) - Obj. X 25 - II/3

Cortex cérébelleux normal - On reconnaît nettement la zone prémigratice de la C.G.E.

Photo 2- L-V - Obj. X 10 - II/28

Cortex cérébelleux normal - On note la diminution notable de la C.G.E. et l'augmentation de la couche moléculaire.

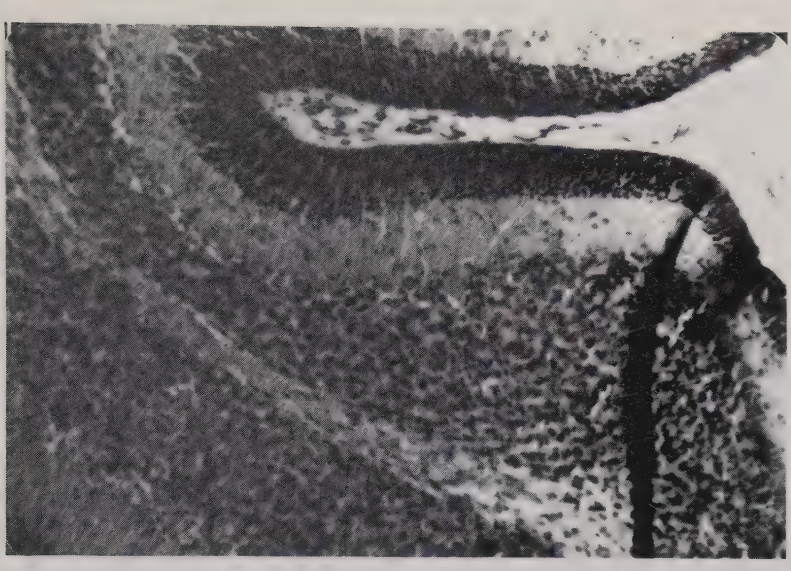


Photo 3 - Hémalun-éosine (H.E.) - Obj. X 10 - X/13

Image montrant les différences d'épaisseur de la C.G.E et de la couche des grains internes suivant la localisation

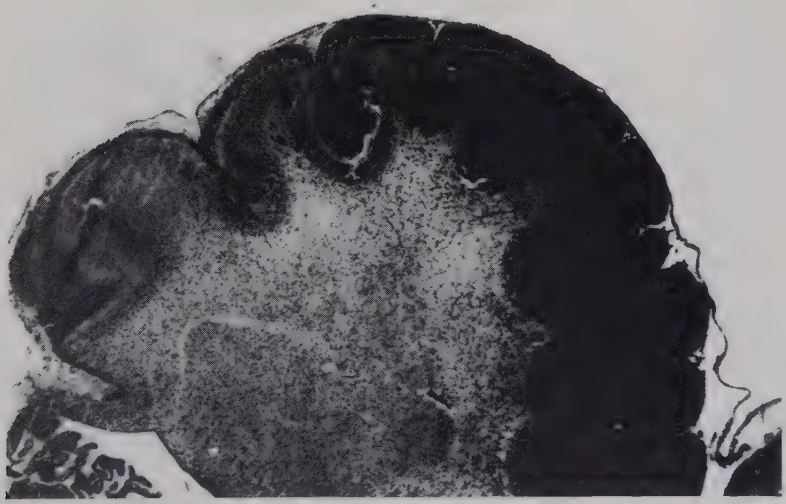


Photo 4 - H.E.- Obj. X 2,5 - X/8

Le cervelet de fureteau est très immature : les sillons sont à peine creusés.

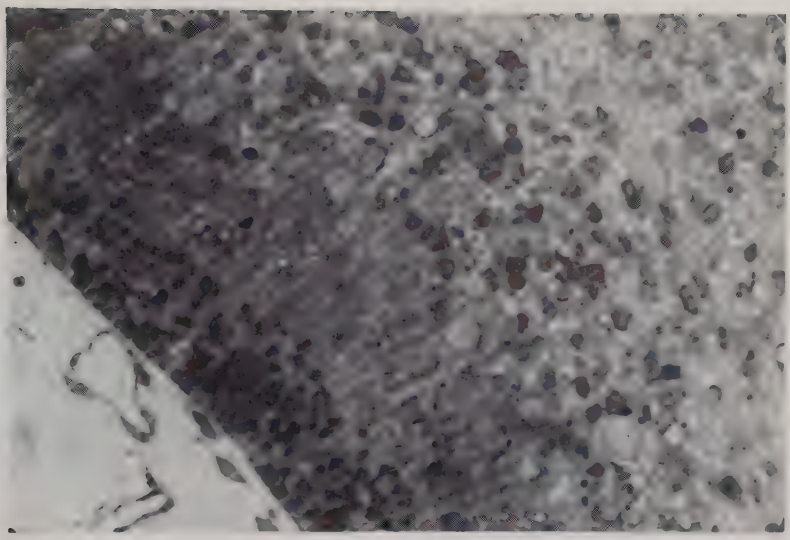


Photo 5 - Coupe semi-fine - Bleu de méthylène - Obj. X 25 - II/8
On aperçoit nettement l'arbre dendritique d'une cellule de Purkinje

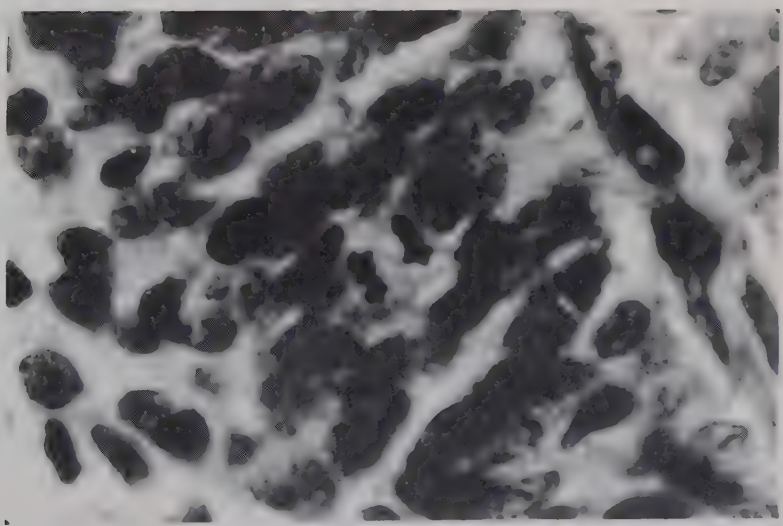


Photo 6 - L-V - Obj. X 100 - IV/9
Images de mitoses dans la C.G.E.

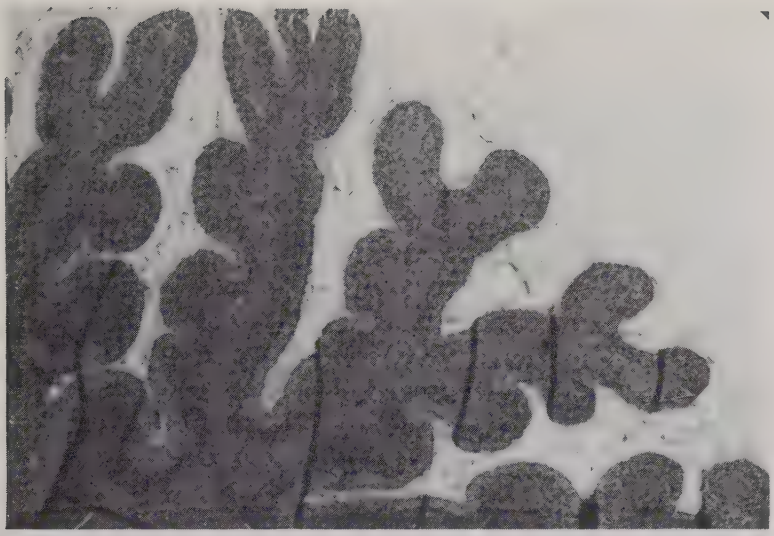


Photo 7 - Obj. X 2,5 - H.E. - I/43

Hypoplasie cérébelleuse marquée tant du point de vue macroscopique que microscopique : les sillons sont larges, profonds

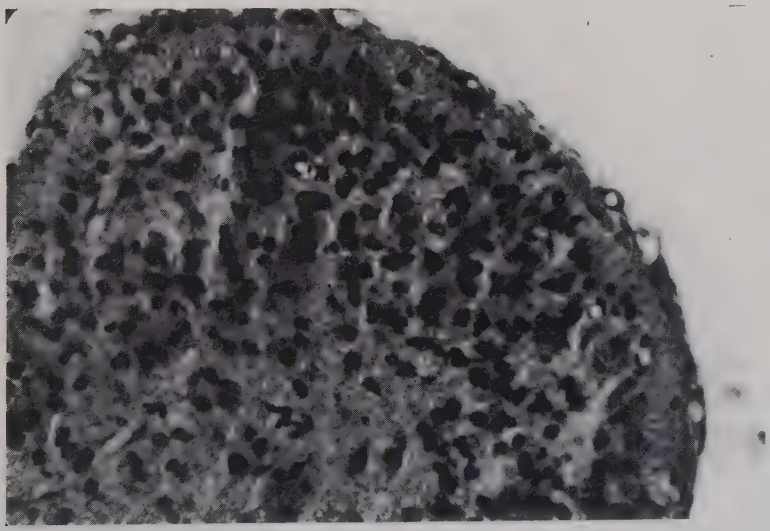


Photo 8 - Obj. X 25 - H.E - I/43

Tableau lésionnel complet. La C.G.E. n'existe plus ; la couche moléculaire est restée virtuelle; les cellules de Purkinje sont absentes ; la couche des grains est peu peuplée.

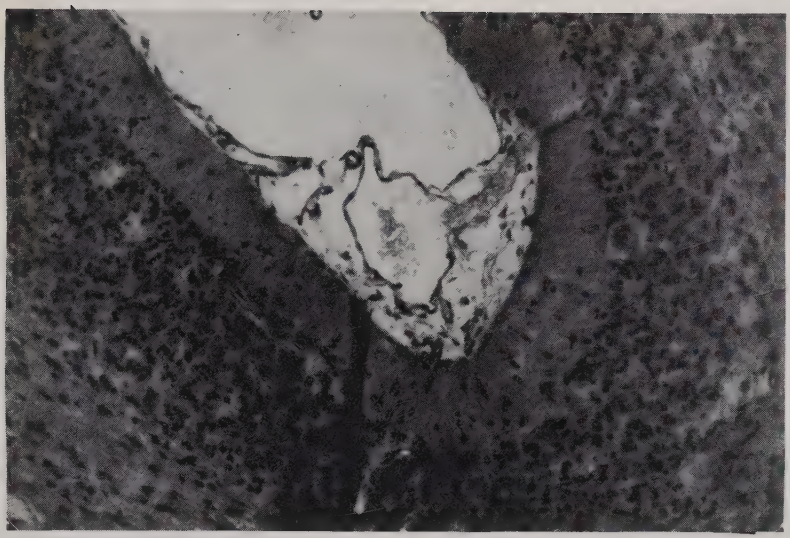
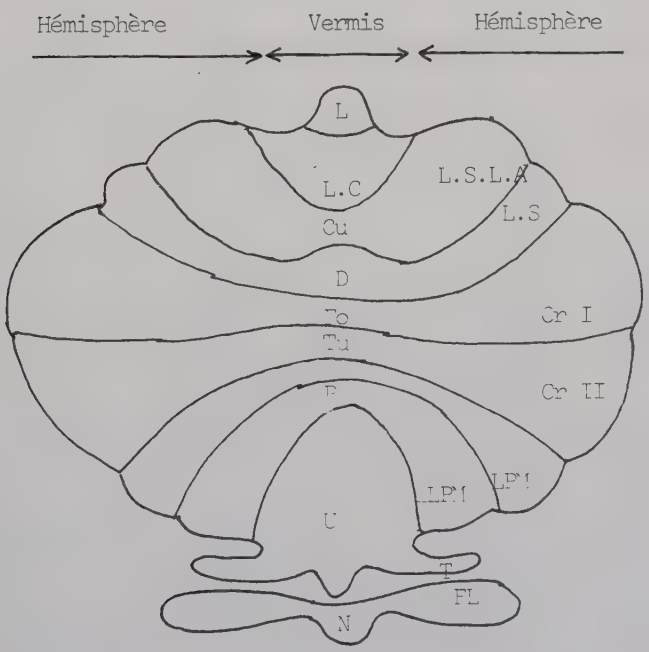


Photo 9 - Obj. x 10 - H.E. - I/43 - Fond d'un sillon
On note la présence d'une seule cellule de Purkinje dans le champ.

ANNEXE I

Vue dorsale d'un cervelet de mammifère et tableau de la terminologie cérébelleuse utilisée en anatomie comparée (d'après 11)



Les abréviations correspondent aux initiales des termes d'anatomie comparée.

Tableau :

ANATOMIE COMPAREE			
Lobes	Portion vermienne	Portion hémisphérique	Fissures
LOBE ANTERIEUR	Lingula	Vinculum	Précentrale
	Lobule central	Ailes	Préculminale
	Culmen	Lobule semi-lunaire antérieur	Primaire
LOBE POSTERIEUR	Déclive	Lobule simplex	Postéro supérieure
Lobe ansiforme	Folium vermis	Crus I	Intercrurale
	Tuber vermis	Crus II	Pré-pyramidale
	Pyramis	Lobule para-médian	Secondaire
	Uvula	Tonsilla	Uvulo-nodulaire et postéro latéral
LOBE FLOCCULO-NODULAIRE	Nodulus	Flocculus	

ANNEXE II

Calcul théorique de l'osmolarité de la solution de glutaraldéhyde à 2,5 % dans de l'eau distillée tamponnée (tampon Sorensen)

- Formule du glutaraldéhyde : $C_5H_8O_2$ soit un poids moléculaire de

$(5 \times 12) + (8 \times 1) + (2 \times 16) = 100$

Par définition, une solution titrant 100 mg/l aura une osmolarité de 1 mos ml/l

La solution à 2,5% (25 g/l) développe donc une osmolarité de 250 mosml /1.

- Composition du tampon Sorensen

Sol. A = $Na_2H\ PO_4$ à raison de 9,466 g/1000 ml d'eau distillée
P.M = 142

Sol. B = $K\ H_2\ PO_4$ à raison de 9,073 g/1000 ml d'eau distillée
P.M = 136

La solution définitive est composée de 4/5 de Sol.A et de 1/5 de Sol.B

Osmolarité de la solution A -

une solution de $Na_2H\ PO_4$ titrant 142 mg/l développe une osmolarité de 3 mos ml/l (car la molécule se scinde en 3 ions)

la solution A développe donc : $\frac{9,466 \times 3}{142} = 200$ mosml/l

Osmolarité de la solution B -

une solution de $K\ H_2\ PO_4$ titrant 136 mg/l développe une pression osmotique de 2 mosml/l (la molécule se scinde en 2 ions)

la solution B développe donc une osmolarité de :

$$\frac{9073 \times 2}{136} = 126 \text{ mosml/l}$$

La solution définitive développe donc une osmolarité de :

$$200 \times 4/5 + 126 \times 1/5 = 185 \text{ mosml/l}$$

L'osmolarité du liquide fixateur est à peu près égale à

$$(250 + 185) = 435 \text{ mosml/l.}$$

ANNEXE III

Coloration au Luxol Fast blue + Violet de crésyl
(Kluver et Barrera (1953) (10)

- 1 - Principe général : formation d'un complexe de coloration bleue entre le luxol fast blue et les phospholipides de la gaîne de myéline . On l'associe au violet de crésyl qui colore les noyaux en violet, ce qui contraste la préparation.

- 2 - Procédé opératoire : Coupe déparaffinée, alcools décroissants

. Colorer dans le fast blue à l'étuve à 57/60°C pendant 16 à 24 heures (ne pas oublier de couvrir le bac à colorant !)

. Laver à l'alcool à 95° pour éliminer l'excès de colorant

. Rincer à l'eau distillée

. Commencer la différenciation en plongeant la coupe dans une solution aqueuse à 0,05% de carbonate de lithium pendant quelques secondes (20 à 30)

. La poursuivre dans plusieurs bains successifs dans l'alcool à 70° jusqu'à ce que la coloration bleu-vert de la substance blanche contraste avec la substance grise, incolore.

. Colorer dans la solution de violet de crésyl pendant 1/4 heure.

. Différencier dans plusieurs bains d'alcool à 95° (attention, car la décoloration est très rapide)
. Déshydratation, toluène, montage résine naturelle ou synthétique.

- 3 - Préparation des Solutions

Le luxol fast blue

Luxol fast blue	0,1 g
Alcool à 95°	100 ml
Acide acétique	0,5 ml en solution aqueuse à 10%

Violet de crésyl

solution A : violet de crésyl 0,2 g
eau distillée 200 ml

solution B : Tampon Walpole

acétate de sodium à 3 H_2O (M/5) soit 27,21 g/1000 ml Eau distillée
acide acétique (M/5) 12,01 ml/1000 ml Eau distillée

solution B à pH 4- 4,05

160 ml Acide acétique
40 ml acétate de sodium

Préparation de la solution définitive au moment de l'emploi par mélange de la solution A et de la solution B à parties égales.

BIBLIOGRAPHIE

(1)ALTMAN (J) - Autoradiographic and histological studies of post natal neurogenesis. III. dating the time of production and onset of differenciation of cerebellar microneurons in rats - J.Comp. Neurol. 136, 269.294, 1969

(2) ALTMAN (J) - Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. I. External germinal layer and the transitional molecular layer J. Comp. Neurol. 145, 353.398, 1972

(3) BEERY (Von F.) - Untersuchungen über die Entwicklung der Motilität und die histologische Differenzierung des Kleinhirns bei der Katze in den ersten Lebenswochen - Thèse Doct.Méd.Vét. Berne 1963

(4) BROUWER (B) - Familial olivo-ponto-cerebellar hypoplasia in cats - . Psychiat. Neurol. Bl. 38, 352, 1934

(5) CARMICHAEL (L.E.), JOUBERT (J.C.), POLLOCK (R.V.H.) - Hemagglutination by canine parvovirus : serologic studies and diagnostic applications - Am. J. Vet. Res. 41, 784.791, 1980

(6) CSIZA(C.K) - Feline panleukopenia virus as an etiological agent of ataxia pathogenesis and immune carrier state - Thèse Ph.D. Cornell University, 1970

(7) OSIZA (C.), LAHUNTA (de A), SCOTT (F.W.), GILLESPIE (J.H) - Spontaneous feline ataxia - Cornell Veter. 62, 2, 300.322, 1972

(8) DADOUNE (J.P) - Contribution à l'étude de la différenciation de la cellule de Purkinje et du cortex cérébelleux chez le rat blanc - Arch. Anat. Histo.Embryol. XLIX, 518, 1966

(9) FABRIES (L.P.) - Parvovirose canine : virologie, immunologie, immunoprophylaxie et contribution aux essais cliniques sur le terrain d'un vaccin homologue à virus modifié - Thèse Doct.Vét. Toulouse 1982 (p.20)

(10) GANTER (P) et JOLLES (G) - Histochimie normale et pathologique - edt. Gauthier.Villars, Paris 1970 - T.2 p.1461.1462

(11) GIRORD (C), CZYBA (J.C.) - Le cortex cérébelleux in Cours d'Histologie et d'Embryologie - SIMEP edt. Villeurbanne, 1972, 49.83 - T.II

(12) HERMANN (H) CIER (J.F.) - Précis de physiologie - T.3 : système nerveux central - edt. Masson , Paris 1970, 132 à 153.

(13) HERRINGHAM (W.P), ANDREWES (F.W.) - Two cases of cerebellar disease in cats, with staggering - London, St. Bartholomew's Hospital Rpts. 24, 241, 112.118 , 1888

(14) JOHNSTON (R.H.), KILHAM (L), MARGOLIS (G) - Identity of feline ataxia virus with feline panleukopenia virus - Nature, 214, 175, 1967

(15) KARLSONN (U), SCHULTZ (R.L) - Fixation of the central nervous system for electron microscopy by aldehyde perfusion - J. Ultrastruct. Research 12, 160.186, 1965

(16) KILHAM (L), MARGOLIS (G) - Cerebellar disease in cats induced by inoculation of rat virus - Science 148, 244.246, 1965

(17) KILHAM (L) , MARGOLIS (G) - Viral etiology of spontaneous ataxia of cats- Am. J. Path. 48, 991.1011, 1966

(18) KILHAM (L), COLBY (E.D.) - Congenital infections of cats and ferrets by feline panleukopenia virus - Manifested by cerebellar hypoplasia - Lab. Invest. 17, 5, 465.480, 1967

(19) KILHAM (L), MARGOLIS (G), COLBY (E.D.) - Cerebellar ataxia and its conge - nital transmission in cats by feline panleukopenia virus - J.A.V.M.A. 158, 6, 888.901, 1971

(20) KUNTZ (A) - A textbook of neuro-anatomy - 5e edt. Lea &Febiger, Philadelphia, 1950

(21) LAGET (P) - Structures et fonctions du système nerveux. Eléments de neuroanatomie fonctionnelle : cervelet, mesencéphale et diencéphale - Edt. Masson, Paris, 1973

(22) LAHUNTA (de A) - Comments on cerebellar ataxia and its congenital transmission in cats by feline panleukopenia virus - J.A.V.M.A 158, 6, 901, 1971

(23) LANGMAN (J) - Système nerveux central : in Embryologie médicale Edt. Masson, Paris, 323, 1972

(24) MORIN (G) - Physiologie du système nerveux central - Edt. Masson, Paris, 1955, 2e edt.

(25) OLMER (D) - Histogénèse des cellules du Purkinje du cervelet chez le mouton, le chat, le cobaye - C.R.Soc.Biol., Paris, 51, 911.913 1899

(26) PAVAUX (C1) - Neurologie des mammifères domestiques . T.I. Système nerveux central - E.N.V.Toulouse, p.50.63, 1977.

(27) POIRIER (J) et CHEVREAU (J) - Système nerveux central in / Feuillets d'histologie humaine - fasc. VIII, Neuro-histologie - edt.Maloine Paris, 1972, 22.34

(28) PURPURA (D.P), SHOFER (R.J.), HOUSPIAN (E.M), NOBACK (C.R.) - Comparative ontogenesis of structure function relations in cerebral and cerebellar cortex In : Growth and maturation of the brain - Prog. in Brain Res. - Purpura (D.P.), Elsevier edt. - Amsterdam, Vol.4 187.221.

(29) RAMON Y CAJAL (S) Manual de histologia normal y de tecnica micrografica 4e edt. Madrid, Edt. Moya, 1905

(30) RAMON Y CAJAL (S) - Elements d'histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés - T.II, Edt. Masson , Paris, 1950

(31) SCHEIBEL (M.E.), SCHEIBEL (A.B.) - Observations on the intracortical relations of the climbing fibers of the cerebellum - A Golgi study J. Comp. Neurol. 101, 733.764, 1954

(32) SCHEIBEL (M.E.) , SCHEIBEL (A.B.) - Some structural and functional substrates of development in young cats . - The Developing Brain - 9 6.25, 1964

(33) SMITH (D.E.), DOWNS (I) - Post natal development of the granule cell in the kitten cerebellum - Am.J.Anat. 151, 527.538, 1978

(34) SMITH (K) - A rapid technique for the fixation and sampling of rat central nervous system for electron microscopy - J. Med. Lab. Technol. 24, 139, 1967.

(35) TUCHMANN.DUPLESSIS (H) - Metencéphale in : Embryologie travaux pratiques- Enseignement dirigé, fasc. III, par Auroux M et Haegel P - Edt. Masson , Paris, 1968, 44.45.

Imp. Corep - 21, rue Viguerie - 31300 Toulouse - Tél. : 42.01.19